

Studium stability kopolymerních micel s obsahem resveratrolu

Olena Shutko

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Olena Shutko
Osobní číslo: T22107
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Studium stability kopolymerních micel s obsahem resveratrolu

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část:

Zpracujte rešerši zaměřenou na resveratrol, jako jednu z významných přírodních antioxidačních látek. Věnujte se možnostem jeho stabilizace pomocí inkorporace do různých transportních systémů.

II. Praktická část:

V rámci praktické části připravte a charakterizujte nosiče na bázi kopolymerních povrchově aktivních látek s obsahem resveratrolu.

Zaměřte se na možnosti optimalizace metodiky přípravy s ohledem na výsledné fyzikálně-chemické vlastnosti.

Dosažené výsledky zpracujte a stanovte závěry.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] Almeida, T. C., Seibert, J. B. a kol. Polymeric micelles containing resveratrol: development, characterization, cytotoxicity on tumor cells and antimicrobial activity. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2020, 56, e18411.
- [2] Rao, D. A., Cote, B., Stammet, M. a kol. Evaluation of the stability of resveratrol Pluronic® micelles prepared by solvent casting technique and simple equilibrium method. *Pharmaceutical Nanotechnology* 2016, 4, 120-125.
- [3] Portillo, M. P., Fernandez-Quintela, A. Benefits of resveratrol supplementation. 2016, 260 s., ISBN978-3-03921-276-7. MDPI books.
- [4] Constantinescu, T., Mihis, A. G. Resveratrol as a privileged molecule with antioxidant activity. *Food Chemistry Advances* 2023, 3, 100539.
- [5] Flieger, J., Flieger, W. a kol. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials* 2021, 14, 4135. doi: 10.3390/ma14154135.
- [6] Davidov-Pardo, G., McClements, D. J. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. *Trends in Food Science and Technology* 2014, 38, 88-103.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Jana Sedlářiková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....

podpis autora

ABSTRAKT

Teoretická část bakalářské práce se zabývá antioxidanty, jejich klasifikací, účinky a využitím. Větší pozornost je zaměřena na resveratrol, jeho chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti, stabilitu a biologickou dostupnost. Dále jsou popsány metody zvýšení stability antioxidantů, zejména s využitím enkapsulace do kopolymerních micel, a možnosti využití micelárních systémů ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Praktická část je soustředěna na hodnocení enkapsulace resveratrolu v micelárních systémech na bázi poloxamerů, připravených pomocí různých metod. V rámci stabilitních měření byla stanovena velikost micelárních agregátů, dále byla testována jejich enkapsulační účinnost a také antioxidační aktivita.

Klíčová slova: antioxidanty, enkapsulace, kopolymerní micely, poloxamery, resveratrol, stabilita.

ABSTRACT

The theoretical part of the bachelor thesis deals with antioxidants, their classification, effects and use. More attention is focused on resveratrol, its chemical and physicochemical properties, stability and bioavailability. Furthermore, methods to increase the stability of antioxidants, especially using encapsulation in copolymer micelles, and the possibilities of using micellar systems in the pharmaceutical and cosmetic industry are described.

The practical part is focused on the evaluation of resveratrol encapsulation in micellar systems based on poloxamers prepared by different methods. Stability measurements were performed to determine the size of the micellar aggregates, as well as to test their encapsulation efficiency and the antioxidant activity.

Keywords: antioxidants, encapsulation, copolymeric micelles, poloxamers, resveratrol, stability.

Na prvním místě bych chtěla vyjádřit svou hlubokou vděčnost paní doc. Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D. za její mimořádný přínos k mému vzdělávání – jak z pozice vyučující odborných předmětů, tak jako mé vedoucí této práce. Její výjimečné odhodlání předávat vědomosti, pomáhat studentům, plně se oddávat své profesi a současně šířit pozitivní energii a laskavost si zaslouží mé nejupřímnější uznání. Velmi si vážím příležitosti spolupracovat s ní na této závěrečné práci.

Dále bych ráda poděkovala sama sobě – za to, že jsem zvládla tak náročnou cestu, abych mohla získat vzdělání 1209,73 km od svého domova, naučila se cizí jazyk během 9 měsíců na úroveň C1, vstoupila do světa dospělých a byrokratických povinností v 17 letech a obstála sama v cizí zemi. Pokud jsem dokázala toto, dokážu i pohnout horami.

Také bych chtěla poděkovat několika dalším lidem, ale učiním tak ve svém rodném jazyce, abych zde zanechala otisk své identity.

Любі Седько Наталіє та Шутко Олександрє, мої рідні, моя дорога сім'я, я хочу подякувати вам за можливість відправити свою кровиночку так далеко від себе. Татусю, дякую тобі за довіру, за молитви за мене та за підтримку у важкі моменти. Мамусю, дякую за твою віру в моє бажання та за його реалізацію. Це було дуже важко для нас усіх, але з гордістю можу сказати: «МИ ВПОРАЛИСЯ!». Хочу також вибачитися перед своєю кішкою Кешкою за те, що поїхала так далеко від неї.

Також хочу сердечно подякувати: Прядко Олені, Ткаченко Марині, Козенко Анастасії, Котляр Таїсії, Горбачовій Ользі, Корольовій Юлії, Масловій Анні та Терещенку Кирилу — за їхню підтримку, турботу, любов, чекання мене вдома та за те, що допомогли сформувати мою ідентичність. Я вас дуже усіх люблю та ціную.

Слава Україні!

Героям Слава!

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 ANTIOXIDANTY A JEJICH KLASIFIKACE	13
1.1 PŘÍRODNÍ ANTIOXIDANTY	13
1.1.1 Vitaminy.....	13
1.1.2 Flavonoidy.....	15
1.1.3 Stilbeny.....	16
1.2 SYNTETICKÉ ANTIOXIDANTY	17
1.2.1 Butylhydroxytoluen.....	18
1.2.2 Butylhydroxyanisol	18
1.2.3 Propylgalát	19
2 RESVERATROL A JEHO ÚČINKY.....	20
2.1 VÝSKYT V PŘÍRODĚ.....	20
2.2 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI	21
2.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti	21
2.2.2 Antioxidační vlastnosti.....	22
2.3 TERAPEUTICKÉ APLIKACE	23
2.3.1 Léčba kardiovaskulárních onemocnění	23
2.3.2 Léčba rakoviny	24
2.3.3 Léčba ženských onemocnění.....	25
2.4 KOSMETICKÉ APLIKACE	26
2.4.1 Péče o pleť.....	26
2.4.2 Prevence stárnutí	26
3 KOPOLYMERNÍ SURFAKTANTY	28
3.1 POLYESTERY	28
3.2 POLYAMINOKYSELINY.....	29
3.3 POLOXAMERY	30
3.3.1 Chemická struktura	31
3.3.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti	31
3.3.3 Reologické vlastnosti	32
3.3.4 Chemická stabilita	32
4 KOPOLYMERNÍ MICELY PRO INKORPORACI AKTIVNÍCH LÁTEK.....	36
4.1 VYUŽITÍ KOPOLYMERNÍCH MICEL V MEDICÍNĚ	36
4.2 VYUŽITÍ KOPOLYMERNÍCH MICEL V KOSMETICE.....	39
4.3 AKTUÁLNÍ STAV PROBLEMATIKY SYSTÉMŮ S RESVERATROLEM.....	40
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	43

5	CÍLE PRÁCE.....	44
6	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE	45
6.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	45
6.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	45
7	POSTUPY MĚŘENÍ.....	47
7.1	PŘÍPRAVA ZÁSOBNÍCH ROZTOKŮ POLOXAMERŮ	47
7.2	MĚŘENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ ZÁSOBNÍCH ROZTOKŮ POLOXAMERŮ	47
7.4	MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC A ZETA POTENCIÁLU	51
7.5	MĚŘENÍ ENKAPSULAČNÍ ÚČINNOSTI	53
7.6	MĚŘENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	55
7.7	MĚŘENÍ PH ROZTOKŮ.....	57
7.8	STANOVENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINNOSTI	57
8	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	59
8.1	POVRCHOVÉ NAPĚTÍ ZÁSOBNÍCH ROZTOKŮ	59
8.2	VIZUÁLNÍ HODNOCENÍ.....	60
8.3	VELIKOST ČÁSTIC	63
8.4	ZETA POTENCIÁL	67
8.5	ENKAPSULAČNÍ ÚČINNOST.....	69
8.6	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	72
8.7	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINNOST	75
	ZÁVĚR.....	76
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	77
	SEZNAM OBRÁZKŮ	88
	SEZNAM TABULEK.....	90
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	91

ÚVOD

Oxidační stres je zásadním faktorem, který přispívá k rozvoji mnoha degenerativních a chronických onemocnění, včetně kardiovaskulárních patologií, neurodegenerativních stavů a rakoviny. Antioxidanty jsou schopny neutralizovat volné radikály, které jsou klíčovou součástí biologických mechanismů buněčné obrany. Jednou z nejslibnějších sloučenin v této oblasti je resveratrol, který vykazuje kardioprotektivní, protizánětlivé, neuroprotektivní a protinádorové vlastnosti. Širšímu praktickému využití však výrazně brání jeho nízká rozpustnost ve vodě a vysoká citlivost k oxidaci, což omezuje jeho biologickou dostupnost a účinnost v léčebných a kosmetických přípravcích.

Enkapsulace do micelárních systémů je jednou z nejslibnějších technologií stabilizace hydrofobních biologicky aktivních látek. Poloxamery jsou schopny se samy ve vodných roztocích organizovat do struktur, které účinně zadržují hydrofobní molekuly, chrání je před vnějšími faktory a zajišťují řízené uvolňování. Předložená bakalářská práce se soustřeďuje na možnosti enkapsulace resveratrolu do kopolymerních micelárních nosičů na bázi poloxamerů. Praktická část práce zahrnuje stabilitní studii připravených kopolymerních micel, včetně hodnocení velikosti částic, zeta potenciálu, dále stanovení účinnosti enkapsulace resveratrolu a antioxidační aktivity v závislosti na metodě přípravy.

Získané výsledky rozšiřují poznatky o mechanismech retence a stabilizace resveratrolu v polymerních micelách, což má významný vědecký i aplikační potenciál. Studie otevírá perspektivy pro vývoj nových léčivých a kosmetických forem resveratrolu se zvýšenou biologickou dostupností a stabilitou, které mohou sloužit pro zlepšení terapeutických přístupů v boji proti oxidačnímu stresu a nemocem souvisejícím s věkem.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIOXIDANTY A JEJICH KLASIFIKACE

Oxidace je jedním z běžných procesů probíhajících v lidském těle, při nichž hlavní roli hraje kyslík, který uvolňuje energii. V dostatečně velkém množství se stává toxickým a je zdrojem tzv. volných radikálů, které jsou zodpovědné za strukturální deformace tělesných tkání, oslabení imunitního systému a neschopnost ochrany před virovými, bakteriálními a jinými mikrobiálními útoky. Moderní medicína spojuje s působením těchto aktivních forem kyslíku řadu onemocnění, a proto lidský organismus potřebuje účinné protilátky ve formě speciálních látek – antioxidantů. [1]

Antioxidanty jsou molekuly, které mají schopnost neutralizovat volné radikály, a tím zabráňují oxidačnímu stresu a poškození buněk. Antioxidační aktivita látky se často určuje podle její schopnosti neutralizovat volné radikály, například 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) a 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina) (ABTS), nebo podle její železité redukční antioxidační kapacity. Neutralizace volných radikálů přírodními antioxidanty probíhá dvěma různými mechanismy: přenosem vodíkového atomu a přenosem jednoho elektronu. Pro úplné pochopení tohoto tématu chci podrobněji mluvit o typech antioxidantů: přírodních a syntetických. [2]

1.1 Přírodní antioxidanty

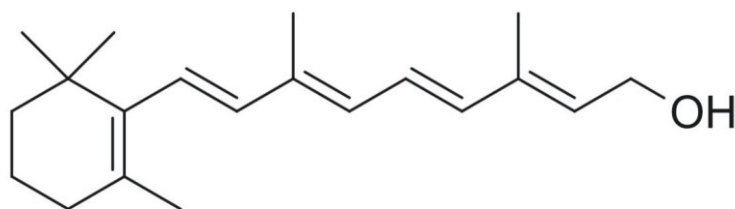
Přírodní antioxidanty jsou biologicky aktivní sloučeniny obsažené v rostlinách, které chrání buňky před poškozením volnými radikály v důsledku běžných metabolických procesů i vnějších faktorů, jako je znečištění, UV záření nebo stres. Nejběžnějšími přírodními antioxidanty jsou vitaminy, flavonoidy, stilbeny, které se nacházejí v různých druzích zeleniny, ovoce, ořechů a dalších potravinách. [3]

1.1.1 Vitaminy

Většinu vitaminů naše tělo není schopno syntetizovat, takže musí být dodáváno s jídlem. Vitaminy fungují jako katalyzátory důležitých biochemických reakcí v lidském těle, proto je nutné je pravidelně doplňovat. Bylo prokázáno, že vitaminy jsou účastníky buněčného procesu, a proto mají potenciální souvislost s rozvojem maligních onemocnění. [4] Lze je rozdělit do dvou hlavních kategorií: rozpustné ve vodě a rozpustné v tucích.

Vitamin A (retinol) (Obrázek 1) je multifunkční vitamin, který ovlivňuje řadu fyziologických procesů, včetně optimálního fungování imunitního systému, zlepšování zraku a udržování zdravé pokožky a sliznic. Hlavními zdroji vitaminu A jsou mléčné

výrobky, vejce, tučné ryby a játra, dále lze vitamin A získat z beta-karotenu, který se nachází v zelenině a v ovoci. Překročení doporučené denní dávky může vést k nežádoucím účinkům, včetně poškození kostí a dalších komplikací, zejména v těhotenství. [5] Retinol je nepoužívanějším vitaminem v kosmetickém průmyslu díky své schopnosti zpomalovat proces stárnutí a stimulovat regeneraci buněk. Protože je retinol rozpustný v tucích, snadno se vstřebává do pokožky, takže je účinnější než vitaminy rozpustné ve vodě. Má antioxidační vlastnosti, stimuluje tvorbu kolagenu a snižuje záněty. [6]

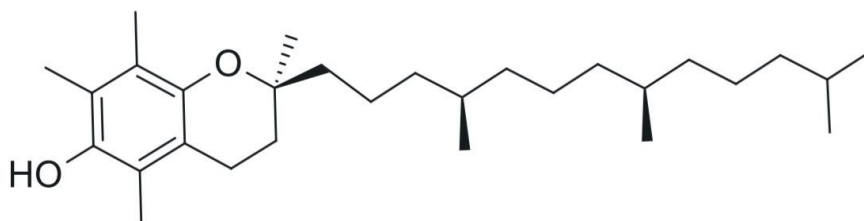


Obrázek 1 Strukturní vzorec vitamínu A

(zdroj: vlastní)

Vitamin E (tokoferol) (Obrázek 2) je důležitý pro udržení zdravé pokožky, očí a posílení imunitního systému organismu. Jeho zdrojem jsou rostlinné oleje (řepkové, slunečnicové, sójové atd.), ořechy a semena a pšeničné klíčky. Případný přebytek vitamínu E se ukládá v těle jako rezerva, v případě nadměrných dávek může dojít k problémům v podobě nevolnosti, či únavy. [9]

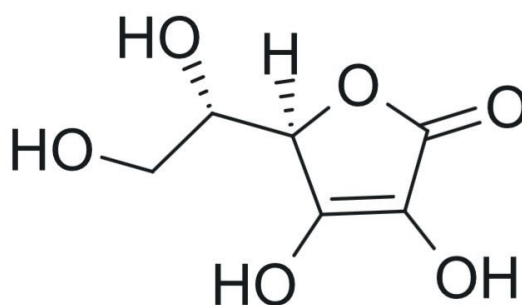
Primární funkcí vitamínu E je ochrana buněčných membrán a lipoproteinů před peroxidací lipidů. Nedostatek tokoferolu je patrný zejména při poruchách vstřebávání tuků, dlouhodobé intravenózní výživě a u nezralých novorozenců. Postihuje membrány mozkových buněk, sítnice a červených krvinek. [7]



Obrázek 2 Strukturní vzorec vitamínu E

(zdroj: vlastní)

Zástupcem vitaminů rozpustných ve vodě je vitamin C (kyselina askorbová) (Obrázek 3). Bylo prokázáno, že podporuje imunitní systém, hojení ran a zlepšuje stav kůže, cév, kostí a chrupavek. V kosmetické oblasti usnadňuje syntézu kolagenu, urychluje hojení jizev a působí jako silný antioxidant v kombinaci s vitaminem E. Navíc se používá ke snížení zarudnutí, posílení cév a zmírnění zánětu. [7] Nejúčinnějšími zdroji vitaminu C jsou citrusové plody, papriky, jahody, černý rybíz, brokolice a růžičková kapusta. [8]

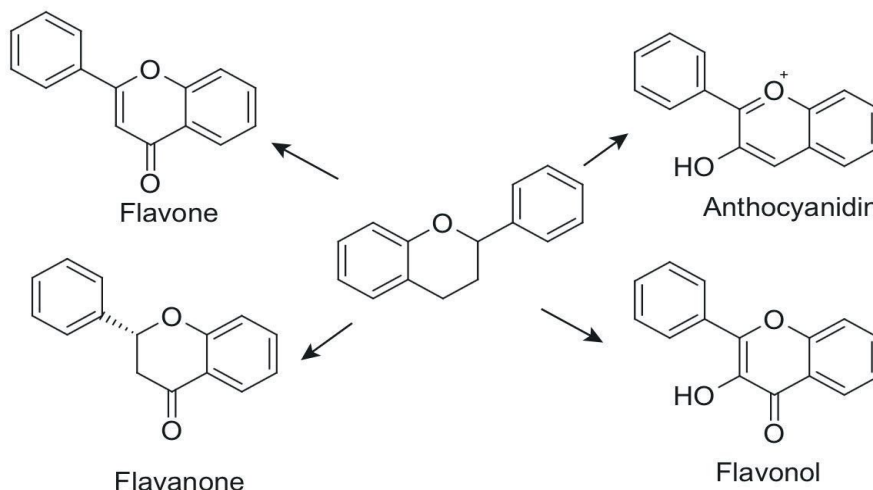


Obrázek 3 Strukturní vzorec vitamínu C

(zdroj: vlastní)

1.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy (Obrázek 4) jsou velkou, heterogenní skupinou sekundárních rostlinných metabolitů s širokou škálou biologických a farmakologických vlastností. Syntéza flavonoidů v rostlinách probíhá fenyylpropanoidovou a šikimátovou dráhou. Základní strukturní jednotkou flavonoidů je aglykon, který může projít řadou modifikací, včetně glykosylace, methylace a acetylce, za vzniku různých sloučenin lišících se chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Jsou známy svými antioxidačními vlastnostmi, které jim umožňují neutralizovat volné radikály a předcházet oxidačnímu stresu. Flavonoidy se dělí do několika podtříd, včetně flavonolů, flavonů, isoflavonů, antokyanů, katechinů a flavanonů. [10]



Obrázek 4 Strukturní vzorce některých typů flavonoidů

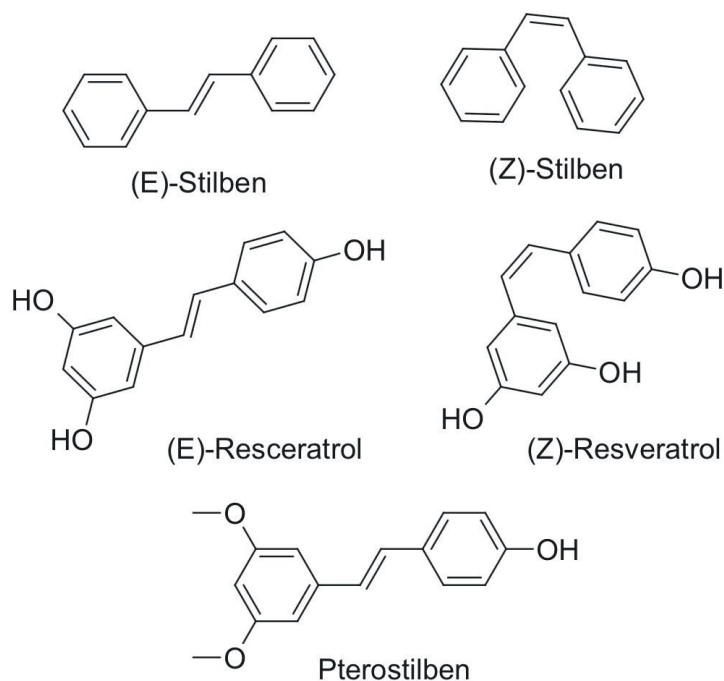
(zdroj: vlastní)

V souvislosti s antioxidační aktivitou flavonoidů je zřejmé, že tyto sloučeniny mají zvláštní schopnost absorbovat reaktivní formy kyslíku. To je způsobeno fenolovými skupinami, které jsou schopny darovat atomy vodíku nebo elektrony, čímž přispívají k přeměně nestabilního fenoxu volného radikálu na stabilnější formu. Tento mechanismus umožňuje flavonoidům chránit buňky před poškozením způsobeným reaktivními formami kyslíku v patogenezi různých chronických onemocnění, včetně rakoviny, kardiovaskulárních chorob a neurodegenerativních poruch. [10]

Některé typy flavonoidů, jako je např. kvercetin, kurkumin, genistein a selen, se v medicíně stále častěji využívají díky svým protizánětlivým, antioxidačním, kardioprotektivním a protinádorovým vlastnostem. Tyto polyfenoly uplatňují své účinky prostřednictvím různých genetických a epigenetických mechanismů a ovlivňují řadu biochemických a molekulárních drah, včetně buněčného růstu, diferenciaci, buněčného cyklu, stárnutí, apoptózy, epiteliálně-mezenchymálního přechodu a metastazování. [2]

1.1.3 Stilbeny

Tyto sloučeniny jsou přítomny v celé řadě rostlin, včetně hroznů, bobulovin, ořechů a dalších potravin. Specifické chemické složení stilbenů (Obrázek 5) je zodpovědné za mnoho jejich biologických vlastností. [11]



Obrázek 5 Strukturní vzorce některých typů stilbenů

(zdroj: vlastní)

Struktura a vlastnosti těchto chemických látek jsou úzce propojeny, jelikož stilbeny obsahují mnoho fenolových skupin, které jim propůjčují výjimečnou antioxidační aktivitu. Tyto sloučeniny mohou účinně interagovat s volnými radikály, čímž je neutralizují a zabráňují oxidačnímu stresu. Jednou z hlavních biochemických drah v rostlinách je fenyylpropanoidní dráha, která je zodpovědná za biosyntézu stilbenů. [12]

Schopnost stilbenů neutralizovat volné radikály a snižovat oxidační stres může být užitečná v prevenci mnoha chronických onemocnění. Stilbeny umožňují stimulaci přirozeného antioxidačního systému aktivací různých antioxidačních drah, a tak účinně neutralizovat volné radikály. Řada studií prokázala, že stilbeny mohou mít potenciál při snižování rizika kardiovaskulárních onemocnění tím, že snižují oxidační stres a zánět cévní tkáně. Zejména resveratrol je považován za slibnou látku pro zpomalení rozvoje aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění. [13]

1.2 Syntetické antioxidanty

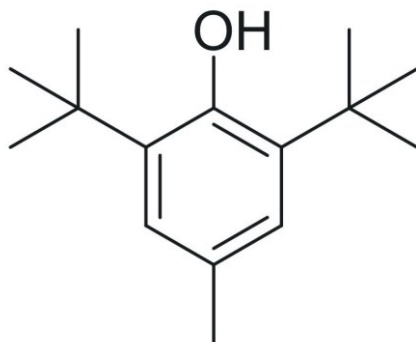
Syntetické antioxidanty jsou, na rozdíl od jejich organických protějšků, vyráběny chemickými syntézami v laboratořích s nižšími výrobními a skladovacími náklady. Stále roste kritika jejich používání z důvodu možného poškození lidského zdraví, zejména

ve vysokých dávkách, a proto se upřednostňují spíše přírodní zdroje. Mezi nejběžnější syntetické antioxidanty patří: butylhydroxytoluen, butylhydroxyanisol a propylgalát. [15]

1.2.1 Butylhydroxytoluen

Butylhydroxytoluen (BHT) je syntetická lipofilní látka krystalického původu (Obrázek 6), jejíž hlavní funkcí je omezit poškození, znehodnocení a ztrátu vlastností výrobků, jako jsou změny vůně, barvy nebo struktury, které mohou být způsobeny volnými radikály. BHT je součástí mnoha různých kosmetických výrobků, jako jsou krémy, pleťové vody atd. [14]

Podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin většina důkazů naznačuje, že BHT nemá potenciál způsobovat genetické nebo chromozomální mutace a neinteraguje s DNA. Maximální doporučené koncentrace v kosmetických přípravcích se pohybují od 0,001 do 0,8%, v závislosti na konkrétním produktu. Některé *in vitro* studie však prokázaly genotoxicitu BHT, která může být způsobena právě přítomností reaktivních forem kyslíku. Na zvířecích modelech byly sledovány karcinogenní účinky po podání vyšších dávek BHT, přesná úroveň bezpečné dávky ovšem nebyla stanovena. [15]



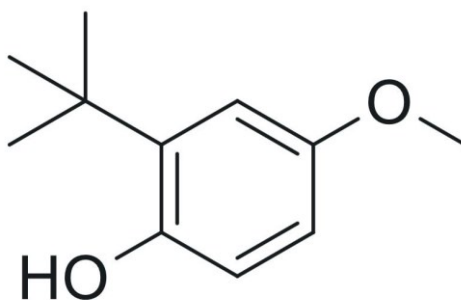
Obrázek 6 Strukturní vzorec butylhydroxytoluenu

(zdroj: vlastní)

1.2.2 Butylhydroxyanisol

Butylhydroxyanisol (BHA) (Obrázek 7) se skládá ze dvou izomerních sloučenin, 2-terc-butyl-4-hydroxyanizol a 3-terc-butyl-4-hydroxyanizol, přičemž 3-BHA má lepší antioxidační vlastnosti. Tento antioxidant je rozpustný v alkoholech, tucích a olejích, ale nerozpustný ve vodě. Působí jako analog vitamínu E a neutralizací volných radikálů snižuje riziko vzniku rakoviny. Kromě toho bylo prokázáno, že BHA chrání játra a ledviny před poškozeními způsobenými léky. Na druhou stranu ovšem existují různé důkazy, které

naznačují, že BHA může mít negativní účinky na zdraví, včetně narušení endokrinního systému a podpory obezity prostřednictvím stimulace adipogeneze. [16]

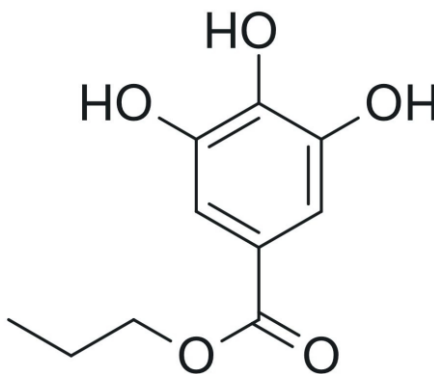


Obrázek 7 Strukturní vzorec butylhydroxyanisolu

(zdroj: vlastní)

1.2.3 Propylgalát

Propylgalát (PG) (Obrázek 8) se široce používá v kosmetických přípravcích, kde pomáhá zabránit oxidaci tuků a olejů, čímž prodlužuje jejich trvanlivost a přispívá zachovat jejich požadované vlastnosti. Díky svým antimikrobiálním účinkům PG také brání růstu mikroorganismů (např. *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*), což zvyšuje jejich bezpečnost a účinnost. Některé studie také prokázaly, že PG vykazuje potenciální terapeutické vlastnosti, jako je protinádorová aktivita a ochrana před oxidačním stresem, což z něj činí slibného kandidáta pro použití v některých léčivých přípravcích. Přesto by se měla věnovat pozornost dalšímu výzkumu, aby bylo možné lépe pochopit dlouhodobé účinky PG na lidské zdraví, a to zejména kvůli jeho potenciální toxicitě vyvolané nesprávným dávkováním. [17]



Obrázek 8 Strukturní vzorec propylgalátu

(zdroj: vlastní)

2 RESVERATROL A JEHO ÚČINKY

Současný lékařský výzkum se stále více soustřeďuje na přírodní látky, které mohou pozitivně ovlivňovat lidské zdraví a sloužit jako účinné prostředky pro prevenci a léčbu různých onemocnění. Jednou z takových látek je resveratrol, přírodní antioxidant, který se nachází v řadě rostlinných zdrojů.

Navzdory rozsáhlému výzkumu však zůstává mechanismus, kterým resveratrol působí na buněčné a molekulární úrovni, stále předmětem dalšího zkoumání. Tato část práce přináší přehled současných poznatků o mechanismech účinků resveratrolu a jeho potenciálním využití při léčbě různých onemocnění.

2.1 Výskyt v přírodě

Resveratrol je přirozeně se vyskytující polyfenolická sloučenina, která je obsažena v několika druzích rostlin, kde slouží jako obranný mechanismus proti stresovým faktorům prostředí, včetně patogenů, UV záření a fyzického poškození. Nejvyšší koncentrace resveratrolu se obvykle nacházejí ve slupkách hroznů (*Vitis vinifera*), zejména v tmavě zbarvených odrůdách, což vysvětluje jeho významný obsah v červeném víně. Kromě hroznů je resveratrol přítomen i v dalších rostlinných zdrojích, např. plodech arašídů, arašídovém másle a rostlině Itadori, dále také v cibuli (*Veratrum album*) a kořeni Křídlatky japonské (*Polygonum cuspidatum*). [17] [18] [19]

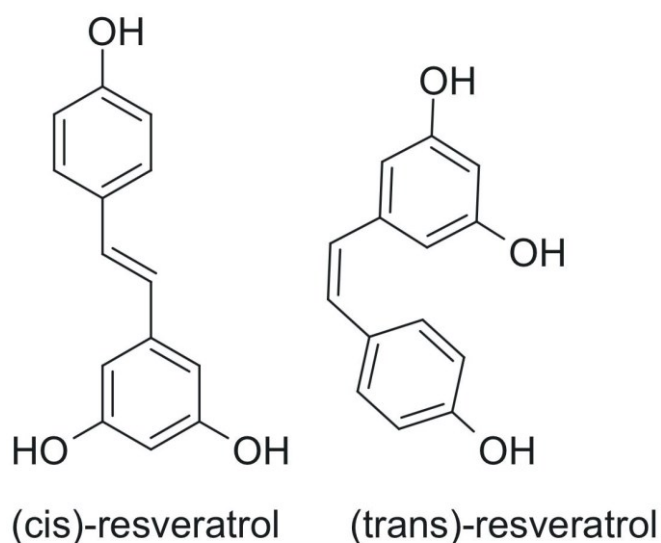
Koncentrace resveratrolu v rostlinách je velmi proměnlivá a závisí na řadě faktorů, včetně zeměpisného původu, odrůdové specifičnosti, podmínek pěstování, vystavení stresovým faktorům a způsobů zpracování. Například obsah resveratrolu v hroznech je vyšší v rostlinách pěstovaných v klimatických podmínkách s intenzivnějším slunečním zářením nebo v oblastech s výskytem plísní, které podněcují syntézu resveratrolu jako obranný mechanismus. [2]

Syntéza resveratrolu v rostlinách probíhá prostřednictvím fenylypropanoidní dráhy, kde funguje jako fytoalexin, typ sekundárního metabolitu, který přispívá k ochraně rostlin před mikrobiálními infekcemi a jinými stresovými podmínkami. Tato přirozená ochranná funkce resveratrolu v rostlinách představuje jednu z hlavních motivací pro jeho intenzivní zkoumání v kontextu lidského zdraví, zejména s ohledem na jeho antioxidantní, protizánětlivé a protinádorové vlastnosti. [18]

2.2 Chemická struktura a vlastnosti

Resveratrol neboli 3,5,4'-trihydroxy-trans-stilben (Obrázek 9), je bílá až světle žlutá krystalická látka, která patří podle počtu uhlíků do skupiny stilbenů. Strukturálně se podobá syntetickému estrogenu diethylstilbestrolu. [20]

Tato sloučenina se skládá ze dvou aromatických fenolových kruhů spojených ethylenovým můstkem, což umožňuje existenci dvou izomerů: trans a cis formy. Optická aktivita resveratrolu se mezi těmito dvěma izomery výrazně liší, což ovlivňuje jeho biologickou aktivitu a použití. Trans-forma resveratrolu má nejvyšší biologickou aktivitu a chemickou stabilitu, je tvořena hydroxidovými atomy na opačných stranách molekuly, zatímco cis-resveratrol má hydroxidové atomy na jedné straně a je méně stabilní. [21]



Obrázek 9 Strukturní vzorec cis– a trans-resveratrolu

(zdroj: vlastní)

Hydroxylové skupiny umístěné na pozicích 3, 5 a 4' fenolových kruhů resveratrolu jsou zodpovědné za jeho antioxidační vlastnosti, jelikož tyto skupiny mohou poskytovat elektrony a tím neutralizovat volné radikály, což napomáhá ochraně buněk před oxidačním stresem způsobeným vnějšími faktory. [22]

2.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti

Molární hmotnost resveratrolu je $228,24 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ a teplota tání se pohybuje přibližně v rozmezí $253\text{--}255 \text{ }^{\circ}\text{C}$, což svědčí o krystalické struktuře této látky a její dostatečně stabilní molekulární konformaci. Resveratrol je ve vodě špatně rozpustný, s rozpustností přibližně

0,03 mg.ml⁻¹ při pokojové teplotě (25 °C). Nízká rozpustnost ve vodě významně omezuje jeho biologickou dostupnost při perorálním podání. Současně je resveratrol poměrně dobře rozpustný v organických rozpouštědlech (např. ethanol, dimethylsulfoxid, dimethylformamide), což usnadňuje jeho extrakci z přírodních zdrojů a přípravu různých přípravků. [23]

Jednou z chemických vlastností resveratrolu je jeho vysoká reaktivita jako polyfenolové sloučeniny, která mu umožňuje účastnit se různých chemických reakcí, jako je oxidace, redukce a konjugace s jinými molekulami. Schopnost resveratrolu darovat elektrony a neutralizovat volné radikály je důležitým faktorem ovlivňujícím jeho antioxidační vlastnosti. Navzdory fyzikální stabilitě struktury je resveratrol chemicky nestabilní při vystavení světlu, teplu a kyslíku. Zejména trans-resveratrol se může izomerizovat do méně stabilní cis-formy při vystavení UV záření, což vede ke snížení jeho biologické aktivity. Při vyšších teplotách může dojít k termální degradaci resveratrolu, což omezuje jeho dlouhodobou stabilitu při nesprávném skladování. [24] [21]

Resveratrol také vykazuje schopnost interagovat s jinými látkami. Studie ukázaly, že může chelatovat ionty mědi a železa, což zvyšuje jeho stabilitu a antioxidační účinnost. V lidském těle je resveratrol metabolizován převážně pomocí jaterních enzymů, zejména glukuronizací a sulfatací, což vede ke vzniku několika metabolitů s různými úrovněmi biologické aktivity. Na degradaci resveratrolu mohou mít vliv i enzymy, jako je cytochrom P450, které se podílejí na metabolismu steroidů, žlučových kyselin, nenasycených mastných kyselin, fenolických metabolitů a také na detoxikaci xenobiotik. [25]

2.2.2 Antioxidační vlastnosti

Resveratrol působí jako přímý vychytávač volných radikálů, poskytuje volným radikálům elektron a stabilizuje je, čímž zabraňuje poškození buněčných membrán, proteinů a DNA. Kromě přímé antioxidační účinnosti je resveratrol také stimulátorem antioxidačních obranných mechanismů v buňkách, což pomáhá snižovat oxidační stres na buněčné úrovni aktivací enzymů, jako je superoxiddismutáza a kataláza, které neutralizují superoxidové radikály a peroxid vodíku. [22]

Resveratrol dále vykazuje schopnost modulovat různé signální dráhy spojené s oxidačním stresem a zánětem. [22] Nejlepším příkladem reaktivity je účinek resveratrolu na přímou aktivitu nukleárního faktoru kappa B (NF-κB), významného regulátoru konkrétní zánětlivé reakce v živých buňkách. Inhibicí aktivace NF-κB tak potlačuje produkci

prozánětlivých cytokinů, jako je například nekrotizující faktor alfa (TNF- α) a interleukin-6 (IL-6), čímž napomáhá snižovat oxidační stres a zánět, zabraňují stárnutí buněk i celého těla. [26]

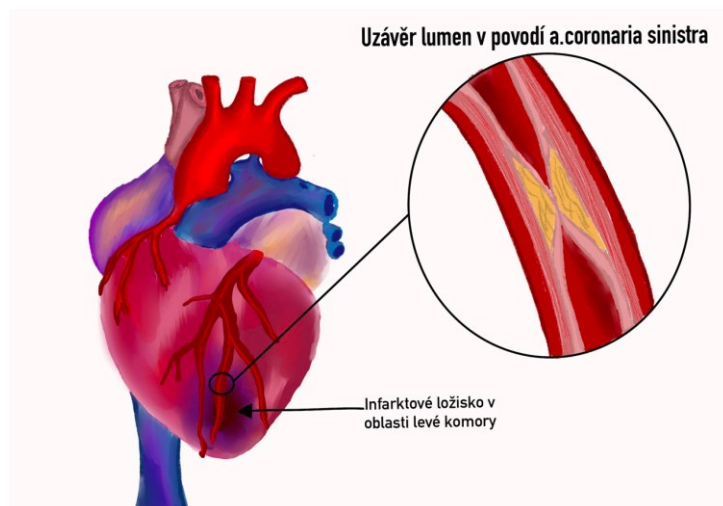
Reaktivní vlastnosti resveratrolu ovlivňují také funkci mitochondrií, jako je regulace apoptózy (buněčné smrti) a produkce ATP. Zvýšením účinnosti mitochondriálního dýchacího řetězce přispívá resveratrol ke snížení produkce reaktivních forem kyslíku (ROS), čímž snižuje oxidační poškození na buněčné úrovni. [19]

2.3 Terapeutické aplikace

V posledních letech se výzkum zaměřil na využití resveratrolu jako perspektivního prostředku pro různé terapeutické účely. Ukázalo se, že tato látka je účinná v množství biologických procesů, od ochrany kardiovaskulárního systému až po modulaci zánětlivých reakcí a ochranu nervových buněk. Další část bude zaměřena na konkrétní případy, kdy resveratrol prokázal svůj terapeutický potenciál.

2.3.1 Léčba kardiovaskulárních onemocnění

Resveratrol je zkoumán jako potenciální účinná látka pro léčbu kardiovaskulárních onemocnění, jako je ischemická choroba srdeční, která se řadí mezi hlavní příčiny úmrtí na celém světě. Klinická studie provedená Poltavskou státní lékařskou univerzitou v roce 2023 u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (Obrázek 10) prokázala, že přidání resveratrolu ke standardní léčbě vedlo k významnému zlepšení srdeční funkce. Po dvou měsících léčby bylo pozorováno zvýšení ejekční frakce levé komory, která byla výrazně vyšší než u skupiny pacientů užívajících kvercetin (bioflavonoidní antioxidant). Tyto výsledky naznačují, že resveratrol má výraznější vliv na zlepšení systolické i diastolické funkce srdce, což může být způsobeno jeho schopností modulovat zánětlivé procesy, zejména inhibicí NF- κ B, který reguluje produkci prozánětlivých cytokinů, mezi něž patří TNF- α a IL-6. [26]



Obrázek 10 Schematické znázornění srdce a koronárních cév při ischemické chorobě srdeční

(zdroj: vlastní)

Rovněž bylo prokázáno, že resveratrol zlepšuje funkci endotelu, což může být velmi užitečné při prevenci aterosklerózy a zlepšování celkového stavu cévního systému. Dochází totiž k podpoře syntézy oxidu dusnatého a inhibici jeho degradace, což přispívá k vazodilataci, a snížení adheze leukocytů k endoteliálním buňkám. Resveratrol také inhibuje agregaci krevních destiček a proliferaci buněk hladkého svalstva cév, což zabraňuje rozvoji aterosklerózy a podporuje lepší průtok krve. [28]

2.3.2 Léčba rakoviny

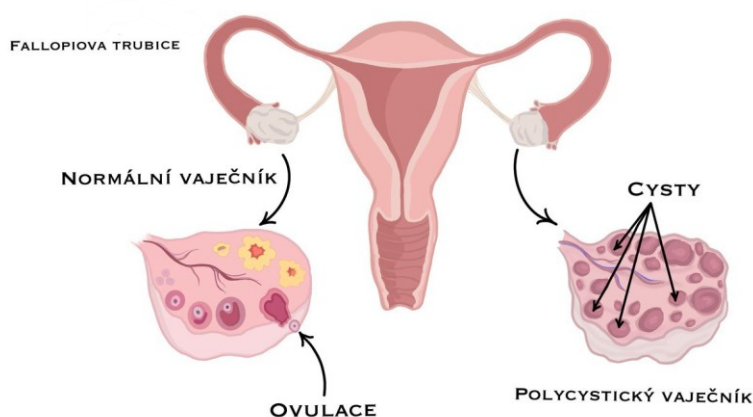
V poslední době se resveratrol jeví jako slibný nástroj v boji proti různým typům rakoviny díky své schopnosti ovlivňovat řadu běžných molekulárních mechanismů bez možnosti potlačení imunity a narušení funkce celého těla. Je schopen vyvolat apoptózu nádorových buněk a inhibici anti-apoptotických proteinů, což vede k programované buněčné smrti nádorových buněk. [29]

Resveratrol působí také jako inhibitor buněčného cyklu tím, že blokuje cyklin D1 (protein, který reguluje buněčný cyklus u eukaryot a patří do rodiny cyklinů) a zastavuje buňky ve fázi G1 (jedno z období buněčného cyklu, které následuje bezprostředně po mitóze), což vede ke snížení jejich růstu a dalšímu působení na organismus. Tento mechanismus může být také posílen inhibicí signálních drah, které podporují přežívání a růst nádorových buněk. [30]

Dále má resveratrol významné protinádorové účinky prostřednictvím fytoestrogenních účinků, regulace SIRT1, inhibice cyklooxygenázy-2 (COX-2) a downregulace faktorů podporujících angiogenezi a metastazování, jako je vaskulární endoteliální růstový faktor a metaloproteinázy. Tyto účinky resveratrolu byly potvrzeny na modelech rakoviny prostaty, prsu, jater a žaludku. [30] [36]

2.3.3 Léčba ženských onemocnění

Resveratrol se ukázal jako účinný nástroj pro udržení zdraví žen, zejména při léčbě syndromu polycystických vaječníků (Obrázek 11) a komplikací v menopauze. Klinické studie prokázaly, že tříměsíční podávání resveratrolu u žen s tímto syndromem vedlo k 23% snížení celkového testosteronu, 22% snížení dehydroepiandrosteronu a 32% snížení hladiny inzulinu nalačno, což dokazuje jeho potenciál ke zlepšení hormonální rovnováhy a metabolického profilu. Resveratrol se také podílí na prevenci a terapii osteoporózy u žen po menopauze díky svému účinku podobnému estrogenu, který stimuluje tvorbu osteoblastů a snižuje počet adipocytů v kostní tkáni, což má nedílný vliv na osteogenezi a zlepšuje hustotu kostí. Jeho základní antioxidační a protizánětlivé vlastnosti mají vliv na snížení oxidačního stresu a zánětu (např. během menstruace), což přispívá ke zlepšení regulace krevního oběhu, normalizaci funkcí reprodukčního systému a celkové kvalitě života žen. [31]



Obrázek 11 Schematické znázornění syndromu polycystických vaječníků

(zdroj: vlastní)

2.4 Kosmetické aplikace

S rostoucí poptávkou po přírodních a organických složkách v kosmetickém průmyslu se výrazně rozšiřuje používání biologicky aktivních složek k ochraně a revitalizaci pokožky. V moderní kosmetice se stále častěji používají přípravky obsahující látky s antioxidačními a protizánětlivými účinky, které pomáhají bojovat proti předčasnému stárnutí, stařeckým skvrnám a celkově mohou zlepšit stav pleti bez chirurgického zákroku. V následující části se budeme zabývat potenciálním využitím resveratrolu v kosmetice jako možného „elixíru mládí“ a jeho účinky z dermatologického hlediska.

2.4.1 Péče o pleť

Díky moderním možnostem vyhledávání informací se stále více lékařů dozvídá o nových objevech v dermatologii a obecně velké množství lidí začíná zpestřovat svou rutinní péči o pleť různými složkami v závislosti na konkrétních potřebách. Resveratrol nezůstal ušetřen, protože se díky svým četným příznivým biologickým vlastnostem aktivně využívá v dermatologii a kosmetologii, zejména v krémech a sérech pro péči o pleť. Jak je uvedeno v článku [33], resveratrol je díky své vysoké propustnosti pro kůži a nízké degradaci při lokální aplikaci účinnou aktivní složkou kosmetických přípravků zaměřených na boj proti fotostárnutí, zánětům, pigmentaci a dalším kožním onemocněním. Studie ukazují, že účinnost resveratrolu lze zvýšit použitím nanotechnologií, jako jsou nanokapsle a nanoliposomy, které zlepšují jeho stabilitu, biologickou dostupnost a řízené uvolňování účinné látky v cílové oblasti kůže. Řada studií prokázala, že při použití nosičů v nanorozměrech poskytuje resveratrol větší ochranu proti ultrafialovému záření a zvyšuje antioxidační účinek. Nanotechnologické systémy s obsahem resveratrolu lze navíc integrovat do krémů a sér s koncentrací od 1 % do 5 %, které se pro dosažení maximálního účinku aplikují ráno a večer na čistou pleť. Tyto produkty lze kombinovat s dalšími antioxidanty, jako je vitamin C nebo kyselina hyaluronová, aby se ještě více zlepšil jejich průnik do hlubších vrstev pokožky a zajistil se synergický efekt, který zvyšuje účinnost boje proti známkám stárnutí a dalším dermatologickým problémům. [32]

2.4.2 Prevence stárnutí

Na základě své schopnosti snižovat známky stárnutí na molekulární úrovni je resveratrol vnímán jako jedna z nejpoužívanějších látek proti stárnutí pleti. Jeho antioxidační účinek má za následek snížení hladiny aktivních forem kyseliny v keratinocytech

vystavených UV záření, čímž chrání skléru před poškozením a degenerativními změnami v epidermis. [34] Resveratrol má významný depigmentační účinek, jelikož zvyšuje expresi tyrosinázy, enzymu v melanogenezi, čímž snižuje syntézu melaninu a zabraňuje hyperpigmentaci a fotostárnutí sklér. [35]

Kromě toho resveratrol působí jako inhibitor enzymů, jako je elastáza, hyaluronidáza a kolagenáza, jejichž aktivita se zvyšuje působením UV záření, s věkem a v důsledku zánětů. Díky tomuto mechanismu resveratrol inhibuje degradaci kolagenu, elastinu a kyseliny hyaluronové, a tím zachovává pružnost, pevnost a vláčnost pokožky. Antivirové účinky resveratrolu jsou posíleny jeho schopností aktivovat sirtuiny, jako jsou SIRT1 a SIRT3, což jsou deacetylázy obsahující NAD⁺, které chrání buňky před poškozením způsobeným oxidačním stresem a zánětem, čímž podporují dlouhověkost a stabilitu buněk před stárnutím. Snížení alergických reakcí kůže. [36] [37]

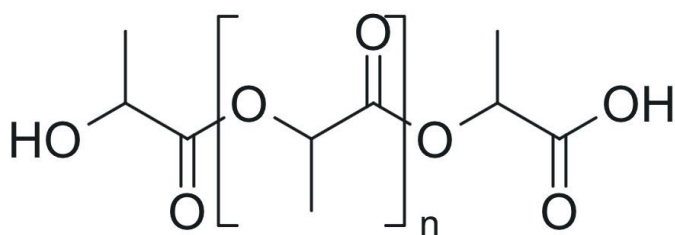
Resveratrol vykazuje značnou aktivitu snižující senzibilizaci kůže, což z něj činí slibnou složku kosmetiky pro prevenci alergických reakcí. Studie ukazují, že jeho sulfatovaný glykosylovaný derivát (RES-GS) má lepší bezpečnostní profil než původní forma resveratrolu (RES), která snižuje pravděpodobnost senzibilizace kůže. RES-GS vykazuje zejména nižší fluorescenční odezvu ve srovnání s RES, což potvrzuje jeho potenciál pro použití v přípravcích pro péči o pokožku s minimálním rizikem vyvolání alergických reakcí. [38] [39]

3 KOPOLYMERNÍ SURFAKTANTY

Kopolymery jsou polymery vytvořené kombinací dvou různých typů monomerů v jednom polymerním řetězci. Jejich vlastnosti závisí na struktuře a poměru monomerů, které mohou být založeny na derivátech polyetheru nebo polyaminokyseliny. [39] Kopolymerní povrchově aktivní látky se skládají z bloků různých polymerů s hydrofilní a hydrofobní částí. Jsou schopny vytvářet ve vodném prostředí micely, které mohou sloužit jako nosiče pro transport a uvolňování hydrofobních léčiv, což výrazně zlepšuje biologickou dostupnost. Jejich významnou funkcí je ale také stabilizace koloidních disperzních systémů a mikroemulzí. Charakterizace významných zástupců amfifilních blokových kopolymerů následuje v dalších podkapitolách. [45]

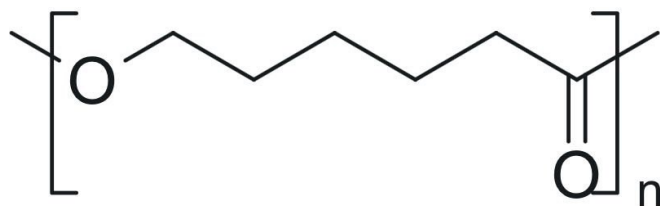
3.1 Polyestery

Do této skupiny se řadí polymery, jako je poly(kyselina mléčná) (PLA) (Obrázek 12), poly(kyselina glykolová) (PGA) a poly(ϵ -kaprolakton) (PCL) (Obrázek 13). PLA a PCL byly úřadem Food and Drug Administration schváleny pro lékařské použití, což podtrhuje jejich účinnost a bezpečnost. [47]



Obrázek 12 Strukturní vzorec PLA

(zdroj: vlastní)



Obrázek 13 Strukturní vzorec PCL

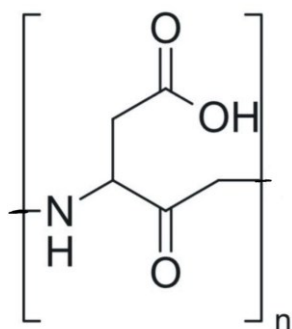
(zdroj: vlastní)

Syntéza polyesterů probíhá běžně pomocí polymerační reakce s otevřením kruhu za použití monomerů, jako je ϵ -kaprolakton nebo kyselina mléčná. Tato metoda umožňuje kontrolu délky výsledného polymerního řetězce a vlastností konečného produktu. Jsou využívány katalyzátory, jako je například oktoát cínatý, který usnadňuje účinnou polymeraci při 115–180 °C. Řízené ladění molekulové hmotnosti polymerů je rozhodující pro zajištění požadované stability a rozpustnosti micel ve vodném prostředí. [45]

Polyesterové kopolymery mají četné biomedicínské aplikace, zejména v systémech pro podávání léčiv. Díky své schopnosti tvořit micely s hydrofobním jádrem mohou polymery účinně enkapsulovat a dopravovat hydrofobní léčiva na místo účinku, což snižuje jejich toxicitu a zvyšuje terapeutický účinek. To z nich činí atraktivní volbu pro léčbu onemocnění, jako je rakovina, kde je vyžadována vysoká úroveň selektivního doručení léčiva do nádorových tkání. Kromě toho může použití těchto kopolymerů snížit nežádoucí interakce léčiv s krevními bílkovinami, což zlepšuje cirkulaci léčiv v organismu. [47]

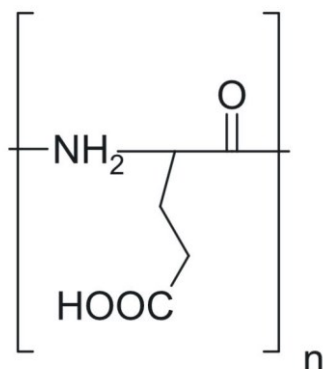
3.2 Polyaminokyseliny

Polyaminokyseliny, jako je kyselina poly(asparagová) (Obrázek 14) a poly(glutamová) (Obrázek 15) mohou tvořit blokové kopolymery a jejich biokompatibilita umožňuje jejich použití v mnoha biomedicínských aplikacích, včetně systémů pro přenos léčiv a genetického materiálu. Syntéza polyaminových kyselin se obvykle provádí polymerizací N-karboxyaminových aminokyselin otevíráním kruhu, což umožňuje řídit strukturu a vlastnosti konečného polymeru. Tyto polymery lze modifikovat tak, aby umožňovaly selektivní zacílení na buňky i řízené uvolňování zapouzdřených účinných látek do buněk, což je činí atraktivními pro podávání léčiv při léčbě rakoviny a dalších závažných onemocnění. [47]



Obrázek 14 Strukturní vzorec poly(asparagové) kyseliny

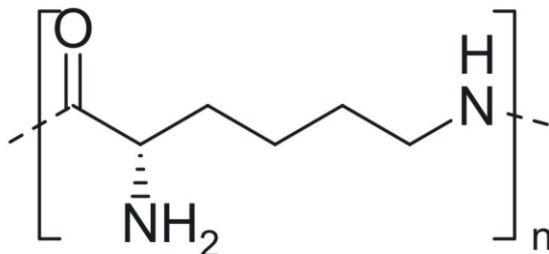
(zdroj: vlastní)



Obrázek 15 Strukturní vzorec poly(glutamové) kyseliny

(zdroj: vlastní)

Dalším zástupcem je poly(lysin) (Obrázek 16), který se díky své schopnosti interagovat se záporně nabitými biomolekulami používá k doručování genetického materiálu, jako je plazmidová DNA. Lze je také upravit tak, aby zvýšily propustnost přes buněčné membrány, což zvyšuje účinnost terapie. [45]

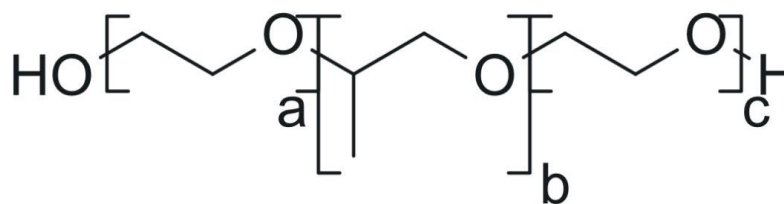


Obrázek 16 Strukturní vzorec poly(lysinu)

(zdroj: vlastní)

3.3 Poloxamery

Mezi amfifilní triblokové kopolymery patří poloxamery, které v posledních letech přitahují značnou pozornost farmaceutického a kosmetického průmyslu. Tyto jedinečné molekuly jsou v posledních letech hojně využívány pro přípravu tzv. „chytrých nosičů“, které kombinují unikátní fyzikálně-chemické vlastnosti s mimořádnou schopností přizpůsobit se různým aplikacím. [40]



Obrázek 17 Strukturní vzorec poloxameru

(zdroj: vlastní)

Vzhledem k rostoucím požadavkům moderní medicíny a kosmetiky se stále častěji zkoumají inovativní způsoby využití těchto polymerů k dosažení optimální účinnosti a bezpečnosti léčiv a kosmetiky. Použití poloxamerů tak otevírá nové perspektivy léčby a péče, které by mohly zásadně ovlivnit budoucnost kožní terapie a systémových aplikací. [41]

3.3.1 Chemická struktura

Poloxamery jsou složeny z hydrofilních jednotek poly(ethylenoxidu) (PEO) a hydrofobních jednotek poly(propylenoxidu) (PPO) uspořádaných v konfiguraci PEO-PPO-PEO (Obrázek 17), což jim umožňuje spontánní samoorganizaci do micelárních struktur ve vodných roztocích. Do PPO hydrofobního jádra mohou být inkorporovány různé hydrofobní látky a chránit je před degradací v biologickém prostředí. [40]

Chemická struktura poloxamerů, zejména délka a složení jejich hydrofilních jednotek PEO a centrální hydrofobní jednotky PPO, významně ovlivňuje jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je kritická micelární koncentrace (CMC), kritická micelární teplota (CMT), rozpustnost ve vodě a stabilita. Délka hydrofilních a hydrofobních segmentů určuje jejich schopnost tvořit micely a hydrogely v závislosti na teplotě a koncentraci. [42]

3.3.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Poloxamery vykazují nízkou CMC, což znamená, že tvoří micely i při výrazně nízkých koncentracích. Důležitým aspektem ovlivňujícím chování těchto povrchově aktivních látek je teplota. Při tzv. CMT se jednotlivé molekulární jednotky (unimery) převádějí na micelární formu, což je nesmírně důležité pro řízené uvolňování léčiv. CMT závisí na délce a složení segmentů PEO a PPO, přičemž poloxamery s delšími segmenty PPO mají obvykle nižší CMT a vyšší tepelnou stabilitu. [40] [43]

Je známo, že poloxamery jsou citlivé na změny pH a iontové síly, což umožňuje jejich použití v prostředí s proměnlivými fyziologickými (pro některé látky nepříznivými) podmínkami. Například v prostředí s nízkým pH mohou poloxamery rychleji uvolňovat inkorporovaný solubilizát, což je velmi výhodné pro cílené podávání léčiv do nádorové tkáně, která má často kyselé mikroprostředí. Uvedené vlastnosti spolu se schopností zvyšovat rozpustnost obtížně rozpustných léčiv z nich činí účinné nosiče pro různé formy léčiv a bioaktivních sloučenin. [43]

3.3.3 Reologické vlastnosti

Poloxamerní povrchově aktivní molekuly jsou silně teplotně závislé a jsou schopny výrazně ovlivňovat reologické vlastnosti právě v závislosti na teplotních podmínkách. Při nízkých teplotách si tyto látky zachovávají kapalně skupenství, zatímco při vysokých teplotách přecházejí do gelového stavu. Tepelně řízený přechod mezi stavem sol a gel závisí na koncentraci, molekulové hmotnosti polymeru, a tedy i délce hydrofilních a hydrofobních segmentů PEO a PEO. Poloxamery obsahující větší podíl hydrofobních segmentů PPO mají často nižší teploty přechodu, což usnadňuje jejich použití v podmínkách, kdy je vyžadována rychlá gelace za fyziologických podmínek. [40] [43]

V oblasti nízkých teplot a koncentrací vykazují poloxamery v roztoku newtonovské chování (kapalina má konstantní viskozitu a tečné napětí v ní je přímo úměrné gradientu rychlosti), zatímco při vyšších teplotách a koncentracích se komplexní viskozita zvyšuje a tvoří se již zmíněné strukturní gely. Tento jev významný u poloxamerů využívaných v biomedicině, kde jsou nezbytné řízené změny viskozity v závislosti na podmínkách prostředí. [41] [44]

3.3.4 Chemická stabilita

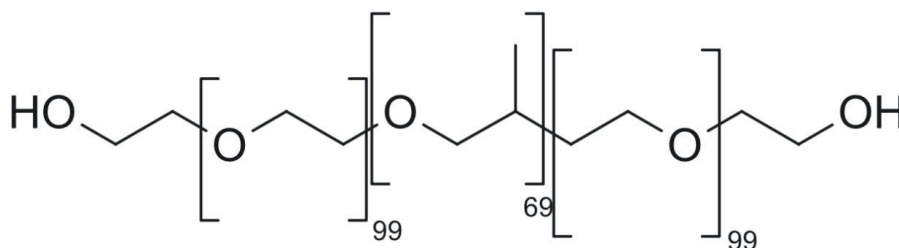
Chemickou stabilitu může ovlivnit celá řada faktorů, jako jsou změny pH, iontové síly nebo okolní teploty. Poloxamery zůstávají stabilní v neutrálním a mírně kyselém prostředí, zatímco v silně zásaditém nebo silně kyselém prostředí může být jejich stabilita dramaticky snížena. Jako příklad lze uvést studii, v níž bylo zjištěno, že při vysokých hodnotách pH může dojít k degradaci hydrofilních segmentů PEO, zatímco při nízkém pH mohou být destabilizovány hydrofobní segmenty PPO. Na základě těchto výsledků lze potvrdit potenciální citlivost na pH pro správnou provozní stabilitu při vývoji formulací pro určitá specifická prostředí. V případě žaludečních nebo střevních onemocnění je nezbytné si tyto nuance uvědomit a předepsat správnou léčbu. [45]

Kromě pH a iontové síly je dalším důležitým vnějším parametrem také teplota. V případě poloxamerů bylo zjištěno, že jsou schopny udržet stabilitu v širokém rozmezí teplot. Při nízkých teplotách tvoří poloxamery stabilní micely, které se rozpadají až při dosažení CMT. Toho lze využít pro řízené uvolňování léčiv, kdy změny teploty v těle pacienta mohou ovlivnit rozklad této micely a následné uvolňování důležitých účinných látek. V tomto ohledu se poloxamery ukázaly jako poměrně účinné nosiče, které si dokáží udržet stabilitu ve složitých biologických prostředích, jako je krev nebo intersticiální tekutiny. [46] [45]

3.3.5 Biokompatibilita

Jako neionické povrchově aktivní látky jsou poloxamery schopny vytvářet micely, které mají minimální cytotoxicitu a jsou buňkami dobře tolerovány, což je slibným předpokladem pro jejich využití jako nosičů léčiv při léčbě rakoviny a různých infekcí. [41]

Bylo prokázáno, že poloxamery, jako je Pluronic F127 (Obrázek 18), mají dostatečně nízkou úroveň imunogenicity a nevyvolávají významné zánětlivé reakce v biologických systémech, což podporuje jejich bezpečné použití ve farmaceutických přípravcích. [41] [45]



Obrázek 18 Strukturní vzorec Pluronic F127

(zdroj: vlastní)

Biokompatibilitu poloxamerů potvrzuje také jejich schopnost rozkládat se v těle na netoxické metabolity, které se snadno vylučují ledvinami. Složky poloxamerů PEO a PPO jsou považovány za málo toxické a biologicky odbouratelné v tělesných tekutinách. Vědci zjistili, že tyto blokové kopolymery nevykazují kumulativní toxicitu ani při opakovaném použití, což je významný indikátor pro jejich použití v dlouhodobých léčebných režimech. Kromě toho se ukázalo, že poloxamery mohou zlepšit farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti tím, že prodlužují jejich cirkulaci v krvi a zvyšují stejnou biologickou dostupnost, čímž nezpůsobují nežádoucí vedlejší účinky. [45]

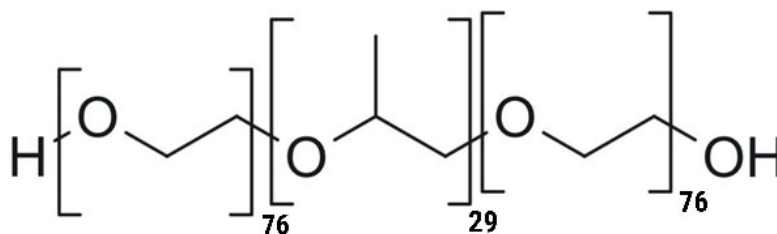
Neméně důležitou výhodou poloxamerů je jejich synergizace s dalšími složkami, což může posílit jejich bezpečnostní profil a spektrum účinku. Kombinací poloxamerů s antioxidanty nebo protizánětlivými látkami lze nejen maximalizovat stabilizaci léčiva, ale také snížit riziko oxidačního stresu nebo zánětlivých reakcí v místě podání. [41]

3.3.6 Aplikace kopolymerních surfaktantů

Polymerní povrchově aktivní látky lze využít pro přípravu různých typů nanogelů, které slouží jako nosiče léčiv pro cílené podávání a řízené uvolňování účinných látek. Poloxamerové nanogely mají vysokou afinitu k vodě, což umožňuje účinný transport hydrofobních a hydrofilních molekul různých léčiv. Významným poznatkem je také možnost měnit jejich fyzikální vlastnosti změnou délky segmentů PEO a PPO. Variabilita segmentů ovlivňuje stabilitu a chování gelu za různých fyziologických podmínek, což činí poloxamery tak ideálními pro vývoj moderních nanogelových systémů s vysokou biokompatibilitou a cílenou funkcí. [43]

Poloxamery se dále používají v nanotechnologiích jako stabilizátory v liposomech a nanočásticích. Jejich schopnost adsorbovat se na povrch těchto nanostruktur umožňuje zvýšit jejich stabilitu a chránit je před aglomerací a degradací. Taková stabilizace je důležitá zejména pro léčiva, která jsou náchylná k hydrolýze nebo oxidaci. Snížení rizika předčasného uvolnění účinné látky je také jednou z jejích vlastností, spolu se schopností zlepšit její cílené podávání. V mnoha případech kombinace poloxamerů s lipidy nebo polymerními nanočásticemi výrazně zvyšuje účinnost transportu léčiva do cílových buněk a tkání. [41]

Poloxamery se používají také v kardiovaskulární medicíně, kde se testují jako součást intravaskulárních léčiv, s cílem tato léčiva stabilizovat a zlepšit jejich dodávání do specifických oblastí těla, například v souvislosti s léčbou hyperlipidemie (abnormálně zvýšené hladiny lipidů a/nebo lipoproteinů v lidské krvi). Studie zaměřené na intravaskulární aplikace ukázaly, že poloxamerové nanogely mohou zlepšit průtok krve a snížit hladinu cholesterolu u pacientů s vysokým rizikem kardiovaskulárních onemocnění. [48] [50]



Obrázek 19 Strukturní vzorec Pluronic F68

(zdroj: vlastní)

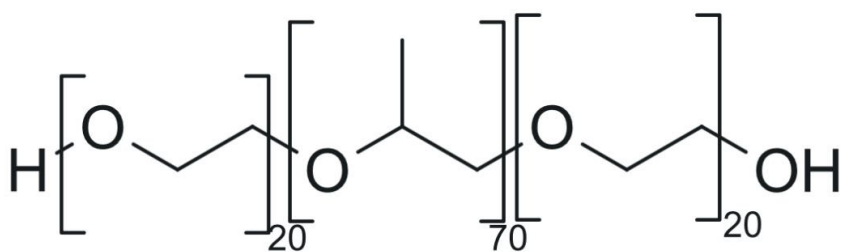
Lze také zmínit použití poloxamerů ve formě intravaskulárních injekcí k prevenci poškození tkání během reperfuzní terapie po infarktu myokardu. Pluronic F68 (Obrázek 19) byl díky své schopnosti stabilizovat buněčné membrány a zlepšovat mikrocirkulaci studován jako prostředek ke snížení poškození srdeční tkáně způsobeného reperfuzním poškozením. [51] Bylo prokázáno, že použití poloxamerů může vést ke zlepšení funkce myokardu a snížení míry nekrózy srdečního svalu. [40]

4 KOPOLYMERNÍ MICELY PRO INKORPORACI AKTIVNÍCH LÁTEK

Kopolymerní micely představují atraktivní systém, který se stále častěji uplatňuje v lékařství a kosmetice, zejména z důvodu schopnosti zvyšovat stabilitu, rozpustnost a biologickou dostupnost účinných látek. Micely složené z blokových kopolymerů usnadňují účinné podávání léčivých a kosmetických složek, a tím optimalizují jejich účinky. Jsou totiž schopny vytvářet stabilní micelární struktury ve vodném prostředí, podporovat řízené uvolňování účinných látek a nabízet tak významné výhody oproti tradičním formulacím. [52]

Pro lepší pochopení vlastností kopolymerních micel je také nezbytné zvážit metody syntézy a případné modifikace, které mohou ovlivnit jejich finální strukturu. Techniky, jako je radikálová polymerace s přenosem atomů, nebo reverzibilní polymerace s adicí řetězce, umožňují řídit syntézu kopolymerů se specifickými molekulovými vlastnostmi, které ovlivňují kritické parametry, jako je CMC a morfologie micel. [53] Kromě toho lze kopolymerní micely funkcionalizovat různými aktivními skupinami, aby se zvýšila jejich biokompatibilita nebo schopnost cílit na konkrétní buňky či tkáň. [54]

V laboratorních podmínkách bylo prokázáno, že micely na bázi Pluronic P123 (Obrázek 20) mohou účinně enkapsulovat různé aktivní látky, jako jsou antioxidanty nebo fotoprotektivní sloučeniny, a zajistit jejich stabilitu a postupné uvolňování. [52]



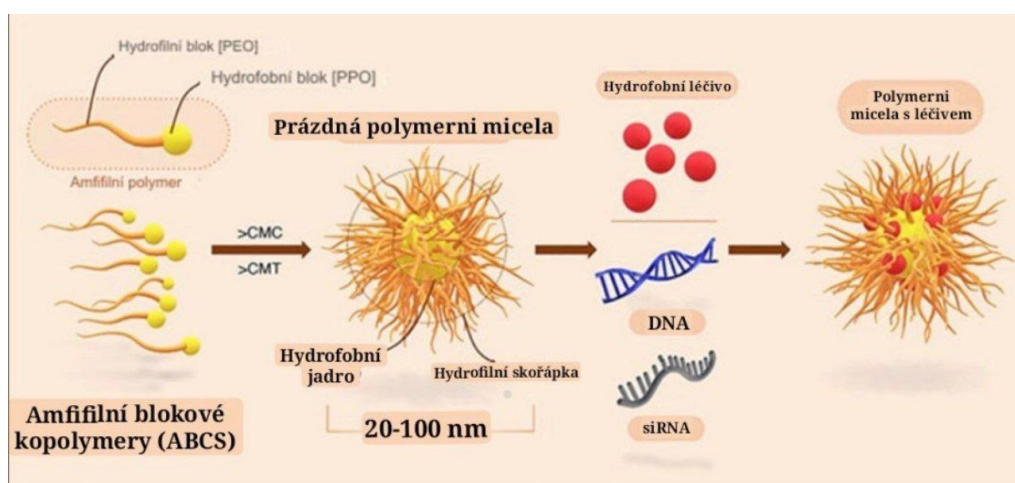
Obrázek 20 Strukturní vzorec Pluronic P123

(zdroj: vlastní)

4.1 Využití kopolymerních micel v medicíně

V medicíně mohou kopolymerní micely zvýšit biologickou dostupnost a účinnost různých terapeutických látek (Obrázek 21) tím, že dojde k lepšímu cílení dané aktivní molekuly na specifické tkáň nebo orgány a je možno řídit kinetiku uvolňování. [55]

Kopolymerní micely vykazují vynikající adaptabilitu a stabilitu v různých prostředích. Vzhledem k jejich stálosti v širokém rozmezí pH je lze s výhodou využít např. při léčbě různých žaludečních onemocnění, kde kyselost žaludeční šťávy brání použití čisté účinné látky. Kopolymerní agregáty navíc vykazují výjimečnou tepelnou stabilitu a svou integritu si zachovávají za různých klimatických podmínek v lidském těle. Studie ukázaly, že micely na bázi poloxamerů zůstávají stabilní i při vysokých teplotách, což snižuje riziko degradace nebo předčasného uvolnění účinných látek. Výsledky studií [55] ukazují, že kopolymerní micely na bázi poloxamerů lze použít k doručení chemoterapeutických léčiv do nádorových buněk, čímž se zvýší jejich koncentrace přímo v místě nádoru a sníží se toxicita v celém těle. [52] [56]



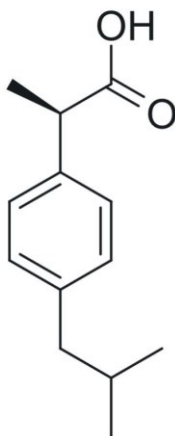
Obrázek 21 Schematické znázornění tvorby kopolymerních micel s léčivem

(zdroj: upraveno podle [47])

Kopolymerní micely byly také studovány za účelem transportu genové terapie a biomolekul, jako je siRNA, které se obtížně transportují přes buněčné membrány. Mohou být navrženy tak, aby zajišťovaly stabilní a chráněný transport těchto molekul do jejich aktivního místa, což významně přispívá k léčbě genetických onemocnění a imunoterapii. Tento přístup nejen zvyšuje účinnost doručení, ale také zajišťuje přesné a kontrolované uvolňování léčiva, což je důležité pro dosažení optimální terapeutické odpovědi. [56]

Quek a kol. se ve své studii zabývají vývojem kopolymerních micel citlivých na reaktivní formy kyslíku pro podávání protizánětlivých léčiv, jako je ibuprofen (Obrázek 22). S těmito micelami reaguje zvýšená hladina reaktivních forem kyslíku v místě zánětu, což způsobuje uvolňování ibuprofenu přesně v místech, kde je koncentrace léčiva potřebná. V důsledku tohoto poměrně složitého mechanismu se zvyšuje účinnost léčby

zánětu a snižují se systémové nežádoucí účinky spojené s ibuprofenem. Uvedená studie ukazuje, že tato technologie může poskytnout cílenou a kontrolovanou léčbu zánětlivých onemocnění, což představuje významný pokrok v personalizované medicíně. [53]



Obrázek 22 Strukturní vzorec ibuprofenu

(zdroj: vlastní)

V rámci farmakokinetického výzkumu *in vivo* na králících byla testována účinnost florfenikolu v částicích na bázi poloxamerů 188, Spanu 80 a Tweenu 80 jako kompozitních emulgátorů. Florfenikol je typ hydrofobního antibiotika, které má omezenou biologickou dostupnost, což komplikuje jeho použití. Bylo zjištěno, že maximální koncentrace přípravku v plazmě krve po aplikaci florfenikolu enkapsulovaného v částicích byla o 43,18 % vyšší ve srovnání s kontrolním vzorkem volného florfenikolu. To svědčí o výrazně vyšší dostupnosti přípravku v organismu. V případě připravených částic byla systémová cirkulace vyšší než u volného antibiotika, což napomáhá efektivnějšímu terapeutickému efektu. [59]

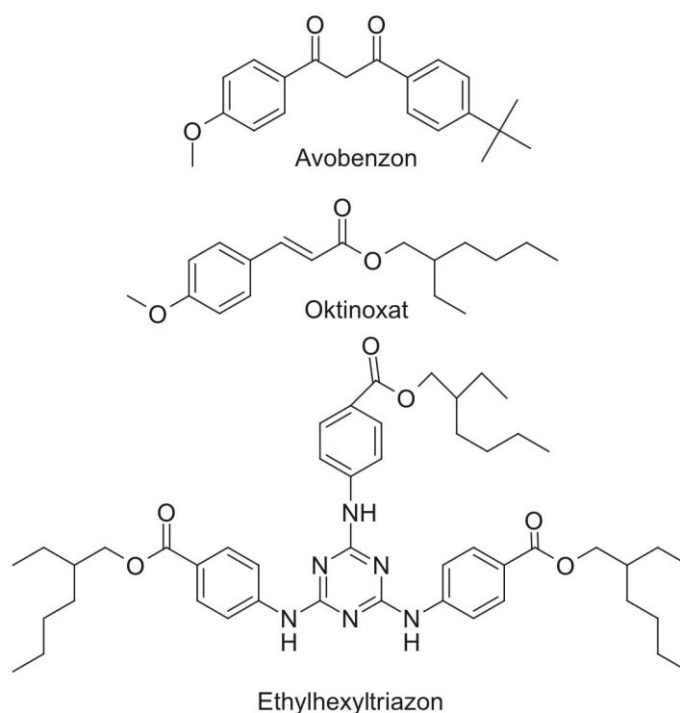
Autoři Zarrintaje a kol. studovali využití poloxamerů v kombinaci s magnetickými nanočásticemi pro cílenou léčbu rakoviny. Studie ukázala, že díky schopnosti poloxamerů samovolně se shromažďovat do micelárních struktur a účinně obalovat magnetické nanočástice jsou tyto hybridní materiály schopny cílit na rakovinné buňky pomocí vnějšího magnetického pole, což výrazně zvyšuje lokalizovanou koncentraci léčiv a snižuje vedlejší účinky na okolní zdravé tkáně. Tato technologie nabízí nový přístup k personalizované léčbě, který kombinuje fyzikální metody podávání léků s pokročilými nanomateriály, a zlepšuje tak výsledky léčby pacientů. [41]

Poloxamery vykazují významný potenciál pro zlepšení dodávání antimikrobiálních léčiv, což může zvýšit účinnost antibiotik, jako je amfotericin B (přírodní antimykotikum

ze skupiny polyenových antibiotik), snížit jejich vedlejší účinky a zlepšit terapeutický index. [49] Tento účinek je způsoben schopností poloxamerů modifikovat povrchové vlastnosti léčiv a usnadnit jejich průnik do infikovaných tkání, čímž několikanásobně zlepšují jejich farmakokinetický profil a minimalizují toxicitu pro zdravé buňky. [41]

4.2 Využití kopolymerních micel v kosmetice

V kosmetickém průmyslu se kopolymerní micely využívají za účelem zapouzdření a dodávání aktivních složek, jako jsou antioxidanty, hydratační látky a UV filtry, čímž se zlepšuje účinnost výsledného produktu i spokojenost spotřebitelů. Cílem využívání kopolymerních micel v kosmetických přípravcích je tedy zejména optimalizace průniku účinných látek, zvýšení stability a prodloužení doby působení těchto látek na pokožku. Autoři Ragu a kol. prokázali citlivost micel na bázi triblokového kopolymeru Pluronic P123 v kombinaci se zástupci běžně využívaných UV filtrů v opalovacích přípravcích, konkrétně oktinoxátu, ethylhexyltriazonu a avobenzonu (Obrázek 23). Bylo zjištěno, že v závislosti na zmíněných UV filtrech došlo ke změně tvaru micel ze sférického na cylindrický, což může významně ovlivnit solubilizační účinky a také reologické vlastnosti výsledné formulace. [52]



Obrázek 23 Strukturní vzorce avobenzonu, oktinoxátu a ethylhexyltriazonu

(zdroj: vlastní)

Mezi další výhody použití kopolymerních micel v kosmetických přípravcích patří jejich schopnost zapouzdřit hydrofobní molekuly, jako jsou oleje a vonné látky, což jim umožňuje stabilně dispergovat ve vodném prostředí a zajišťuje rovnoměrnou aplikaci na povrchy, jako jsou vlasy nebo pokožka. Jako příklad lze uvést micely tvořené kopolymery poly(ethylenoxidu)-b-poly(kyseliny metakrylové), které mají vysokou schopnost absorpce oleje a mohou tak zajistit voděodolnou ochranu po dobu nejméně 30 minut po aplikaci. [57]

Nejnovější studie rovněž ukázaly, že přítomnost kopolymerů na bázi Pluronicu v různých koncentracích v opalovacích krémech ovlivňuje stabilitu a typy vytvořených agregátů, což přispívá k jejich synergickému účinku s dalšími složkami, např. ke zvýšení fotostability UV filtrů. Taková vlastnost kopolymerních micel je velice cenná pro zajištění rovnoměrné distribuce UV filtrů na kůži a jejich účinné ochrany před škodlivým UV zářením. [52]

4.3 Aktuální stav problematiky systémů s resveratrolem

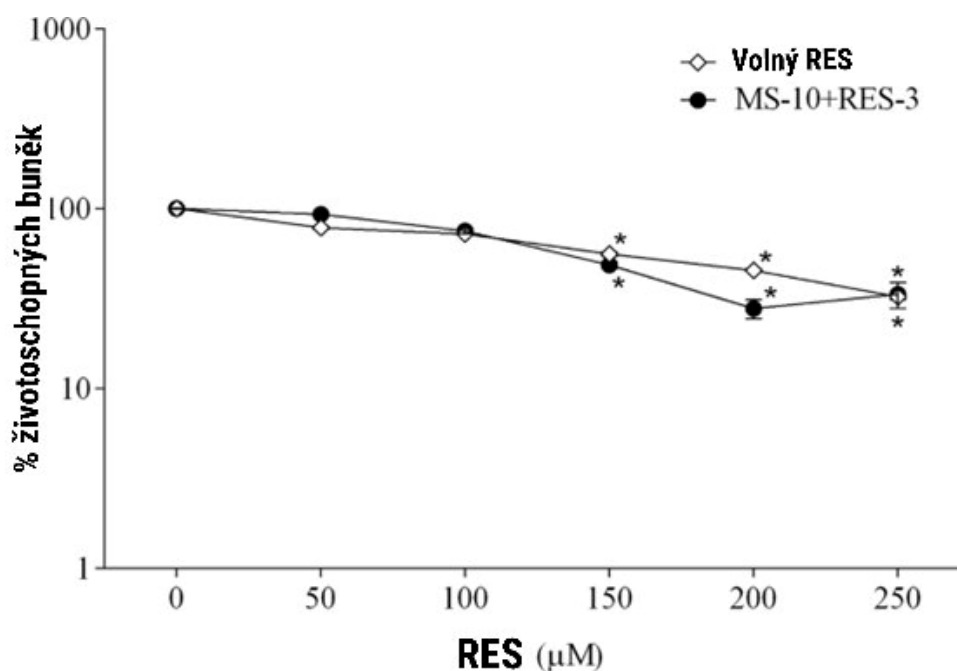
Tato část práce se soustředí na aktuální poznatky v oblasti problematiky enkapsulace resveratrolu jako významné přírodní bioaktivní molekuly a také na budoucí perspektivy využití kopolymerních micel.

Resveratrol vykazuje nízkou rozpustnost ve vodě a výraznou chemickou nestabilitu. Enkapsulace resveratrolu je tedy slibným přístupem k řešení těchto problémů. Mezi relevantní nosiče patří nanočástice typu liposomů, které tvoří dvojvrstvu fosfolipidů a mohou zapouzdřit hydrofilní i hydrofobní látky, což zajišťuje řízené uvolňování a cílené podávání. Nanočástice zlata a nanoxid zinku vykazují vysokou stabilitu a potenciál pro cílené podávání. Zeolity nabízejí možnost řízeného uvolňování díky své porézní struktuře. Uhlíkové nanotrubičky vykazují vysokou propustnost přes buněčné membrány, což je činí účinnými pro doručování účinných látek do rakovinných buněk. Hlavní pozornost bude věnována kopolymerním micelám, které představují velmi atraktivní možnost pro zapouzdření a podávání resveratrolu. [60]

Polymerní micely sestavené z Pluronic F127 a derivátu vitamínu E, které obsahují aktivní látku resveratrol, o průměrné velikosti 179 ± 22 nm byly připraveny s využitím emulzní metody ve studii autorů Gregoriou a kol. Účinnost enkapsulace dosáhla $73 \pm 0,9$ %, přičemž obsah resveratrolu činil $6,2 \pm 0,1$ %. Bylo také prokázáno, že připravené micely významně snižují životaschopnost rakovinných buněk prsu (MCF-7 a MDA-MB-231) ve srovnání s kontrolními buňkami, aniž by ovlivnily zdravé buňky. Na základě výsledků

lze konstatovat, že tento typ micel může sloužit pro efektivní transport resveratrolu pro léčbu rakoviny prsu. [46]

Autoři studie [40] využili stejný kopolymerní surfaktant, tj. F127, k přípravě formulace s resveratrolem za účelem testování antimikrobiálních a cytotoxických účinků vůči rakovinným nádorovým buňkám. Testování cytotoxicity probíhalo pomocí kultivačního testu v jamkových destičkách, v nichž byly po dané době buňky vystaveny působení různých koncentrací micelárních roztoků s obsahem resveratrolu (MS-10+RES-3) a dále vzorkem volného resveratrolu. Na základě výsledků lze potvrdit cytotoxické účinky na buňky rakoviny močového měchýře obou typů formulací, přesto micelární vzorek MS-10+RES-3 prokázal nižší inhibiční koncentraci (IC50) vůči testované buněčné linii (Obrázek 24).



Obrázek 24 Vliv různých forem resveratrolu na životaschopnost buněk T24: srovnání volného a enkapsulovaného resveratrolu MS-10+RES-3

(zdroj: upraveno podle [40])

Antimikrobiální aktivita byla hodnocena *in vitro* s použitím zástupců grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus*, gramnegativní bakterie *Escherichia coli* a patogenní kvasinky *Candida albicans*. U micelární formulace MS-10+RES-3 byla prokázána zvýšená antimikrobiální aktivita ve srovnání s volným resveratrolem. [40]

Dle výsledků literární rešerše lze potvrdit, že problematika kopolymerních micel jako nosičů aktivních látek má výrazný potenciál. Ovšem přestože tyto částice vykazují řadu

zajímavých vlastností, určitě existuje řada výzev, které by měly být zváženy během budoucího výzkumu. Jednou z oblastí je vývoj tzv. „chytrých“ micel, které mohou reagovat na určité podněty, jako jsou změny pH, teploty a přítomnost enzymů. Tyto „na podněty citlivé“ micely mají velký potenciál zlepšit maximální přesnost podávání léčiv a zvýšit jejich terapeutickou účinnost. [41] [46] Jak ukázala studie [58], tyto micelární agregáty mohou účinně uvolňovat svůj obsah pouze za určitých podmínek. Například změna pH z 7,4 na 5,0 vedla k uvolnění přibližně 60 % léčiva, zatímco při pH 7,4 to bylo přibližně 20 %. Tento mechanismus uvolňování také minimalizuje nežádoucí vedlejší účinky, a tím zlepšuje terapeutické výsledky. Další oblastí je zlepšení biokompatibility a stability kopolymerních micel v různých biologických prostředích. Jedním z důležitých úkolů je zajistit, aby micely zůstaly v těle stabilní po dostatečně dlouhou dobu a mohly účinněji dopravit svůj obsah na cílové místo, aniž by se rozpadly nebo agregovaly. To vyžaduje další studium v oblasti analýzy interakcí micel s tkáněmi a krevním oběhem, jakož i jejich dlouhodobého toxikologického profilu. [52] [56]

Je zřejmé, že v souvislosti s používáním kopolymerních micel pro klinické a kosmetické účely je nutno věnovat pozornost souvisejícím legislativním nařízením a normám. S rostoucím zájmem o tuto technologii je nezbytné zajistit, aby všechny výrobky na bázi micel splňovaly přísné bezpečnostní a kvalitativní normy, což vyžaduje precizní spolupráci mezi výzkumnými pracovníky, regulačními orgány a průmyslem. [41]

II PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE PRÁCE

Bakalářská práce je zaměřena na studium vlastností roztoků obsahujících kopolymerní nosiče aktivní látky resveratrolu s ohledem na jejich potenciální využití v kosmetických formulacích. Hlavní cíle lze shrnout následovně:

- Příprava roztoků na bázi na kopolymerních amfifilních sloučenin a jejich charakterizace.
- Enkapsulace resveratrolu do kopolymerních micelárních nosičů s využitím různých procesních podmínek.
- Stabilitní studie připravených systémů, včetně měření velikosti částic a zeta potenciálu.
- Hodnocení antioxidační aktivity a enkapsulační účinnosti kopolymerních agregátů s resveratrolem.

6 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE

6.1 Použité chemikálie

- Agar-Agar typ 1, Sigma-Aldrich
- Chlorid sodný, Iplub
- DPPH roztok 0,1 mM ve ethanolu
- Ethanol 98%
- Mueller–Hinton směs, Mueller–Hinton směs
- Poloxamer P188, Sigma-Aldrich
- Poloxamer P407, Sigma-Aldrich
- Resveratrol Natural 99 %, Nature-Store

6.2 Použité přístroje a pomůcky

- Analytické váhy Sartorius Basic 110 S
- Automatický tenziometr KRÜSS K20 EasyDyne
- Bariérový pH metr CPH 51 s kombinovanou pH elektrodou HC 103
- Běžné laboratorní sklo: kádinky, odměrné baňky, skleněné vialky, odměrné válce, pipety, baňky s kulatým dnem
- Centrifuga EBA 20, Hettich ZENTRIFUGEN
- Denzitometr McFarland typ DEN-1
- Exsikátor
- Filtr CA 0,45 µm, Millex®GS
- Filtr CA 1,2 µm, Millex®GS
- Injekční stříkačka 1 ml 2-dílná
- Injekční stříkačka BBraun Injekt, Luer 10 ml
- Kahan laboratorní WLD-TEC Gasprofi 1 SCS micro
- Kyveta plastová spektroskopická pro UV oblast, BRAND
- Kyveta pro měření zeta potenciálu DTS1070

- Laboratorní mikropipeta Eppendorf Research Plus nastavitelná 1–100 μ l
- Laboratorní mikropipeta Eppendorf Research Plus nastavitelná 100–1000 μ l
- Magnetické míchadlo 2mag magnetic motin MIX 15 eco
- Magnetické míchadlo Heidolph
- Parafilm M Laboratory Seal film
- Spektrofotometr photoLab 6600 UV-VIS
- Ultrazvuková lázeň KAITEK K-10LE
- Vakuová rotační odparka Hei-VAP Advantage
- Wilhelmyho platinová destička
- Zetasizer Nano ZS Malvern
- Zkumavka centrifugační, Falcon, bílá graduace
- Zkumavky s filtrem 0,45 μ m, Midi Spin Filters.

7 POSTUPY MĚŘENÍ

7.1 Příprava zásobních roztoků poloxamerů

Byly připraveny zásobní roztoky poloxamerů (P407, P188, resp. jejich směs P407/P188), přičemž koncentrace každého roztoku činila 5 % hm. Potřebná navážka pro 100 ml roztoku o koncentraci 5 hm% byla vypočítána podle rovnice (1):

$$m_1 = \frac{c_1}{100} * V_2 \quad (1)$$

Kde:

m_1 – hmotnost poloxameru [g]

c_1 – koncentrace roztoku [%]

V_2 – objem destilované vody [ml]

Vypočítané množství poloxameru(ů) (Tabulka 1) bylo naváženo na analytických vahách s přesností na 0,0001 g do 100 ml kádinky a následně rozpuštěno v destilované vodě za kontinuálního míchání (30 až 60 minut) při laboratorní teplotě 25 °C a 250 ot.min⁻¹. Po homogenizaci byl roztok převeden do odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku na požadovaný objem.

Tabulka 1 Navážky pro přípravu roztoků poloxamerů

Roztok	Navážka P407 [g]	Navážka P188 [g]
P407	5	-
P407/P188	2,5	2,5
P188	-	5

(zdroj: vlastní)

7.2 Měření povrchového napětí zásobních roztoků poloxamerů

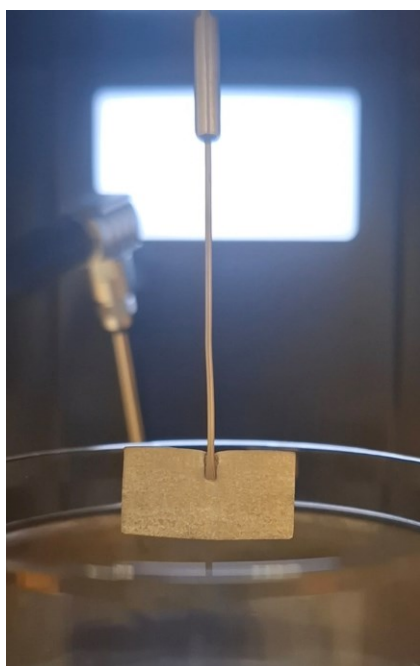
Měření povrchového napětí bylo provedeno pomocí automatického tenziometru KRÜSS K20 EasyDyne (Obrázek 25) s využitím metody Wilhelmyho destičky. Nejprve bylo do měřicí misky nalito odpovídající množství vzorku, který byl ponechán v klidu, aby se zajistila jeho stabilizace před samotným měřením.



Obrázek 25 Automatický tenziometr KRÜSS K20 EasyDyne

(zdroj: vlastní)

Před každým měřením byla Wilhelmyho platinová destička pečlivě vyčištěna, a to oplachem destilovanou vodou a následně vyžeháním v plameni, aby byl její povrch zbaven nečistot a organických zbytků.



Obrázek 26 Wilhelmyho platinová destička na tenziometru

(zdroj: vlastní)

Po této přípravě byla destička zavěšena na měřicí háček přístroje (Obrázek 26) a po ustálení hladiny bylo zahájeno samotné měření, které probíhalo při teplotě 25 ± 3 °C. Tenziometr automaticky zaznamenal hodnoty povrchového napětí, přičemž byla provedena série pěti měření pro zajištění spolehlivosti výsledků.

7.3 Příprava kopolymerních micel s resveratrolem

7.3.1 Ekvilibrační metoda (metoda A)

Příprava kopolymerních micel s resveratrolem pomocí ekvilibrační metody (metoda A) spočívá v přípravě příslušného micelárního roztoku, do nějž se přidá přebytek účinné látky za účelem ověření solubilizační kapacity. Byly využity zásobní roztoky připravené v kapitole 7.1. Resveratrol byl přidán přímo do polymerního roztoku v předem stanovených koncentracích 2 mg.ml^{-1} nebo 20 mg.ml^{-1} a poté byl vzorek homogenizován na míchadle (250 ot.min^{-1}) po dobu 30–50 minut.

Navážky RES (analytické váhy s přesností na 0,0001 g) pro přípravu 20 ml roztoku vypočítané dle Rovnice 2 jsou uvedeny v Tabulce 2.

$$m_1 = V_1 * c_1 \quad (2)$$

Kde:

m_1 – hmotnost resveratrolu pro 20 ml roztoku [mg]

V_1 – požadovaný objem roztoku [20 ml]

c_1 – požadovaná koncentrace resveratrolu [mg.ml^{-1}]

Tabulka 2 Vypočítané množství RES

Požadovaná koncentrace [mg.ml^{-1}]	Vypočítaná navážka pro 20 ml [g]
2	0,04
20	0,4

(zdroj: vlastní)

Roztoky byly následně uchovávány ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 2 až 4 dnů, za účelem dosažení rovnovážného stavu micelárního systému.

7.3.2 Metoda hydratace tenkého filmu (metoda B)

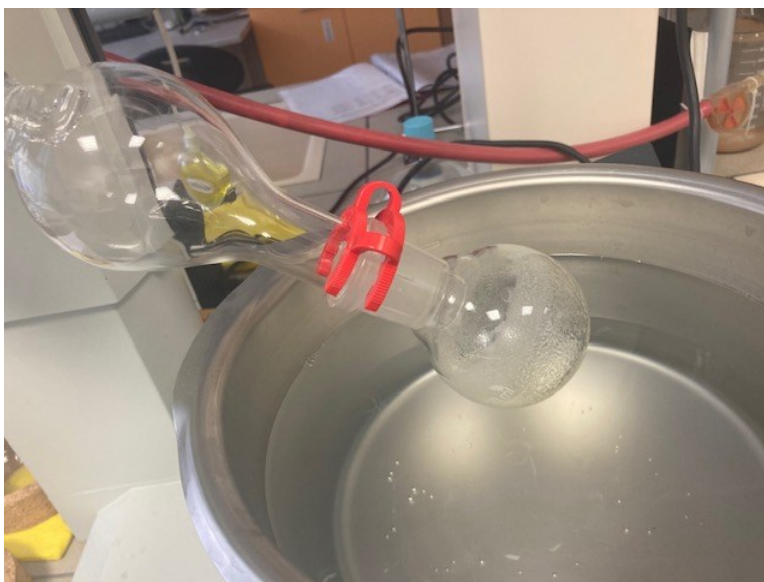
Příprava kopolymerních micel s resveratrolem pomocí metody hydratace tenkého filmu (metoda B) zahrnuje rozpuštění aktivních i nosných látek v příslušném rozpouštědle, následné odpaření a rehydrataci. Nejprve bylo pomocí Rovnice 1 a 2 vypočítáno množství poloxameru a aktivní látky (Tabulka 3).

Tabulka 3 Vypočítané množství poloxameru a RES

Poloxamer/y	Koncentrace RES [mg.ml ⁻¹]	Navážka poloxameru [g]	Navážka RES [g]
P407	2/20	1	0,04/0,4
P407/P188		0,5 + 0,5	0,04/0,4
P188		1	0,04/0,4

(zdroj: vlastní)

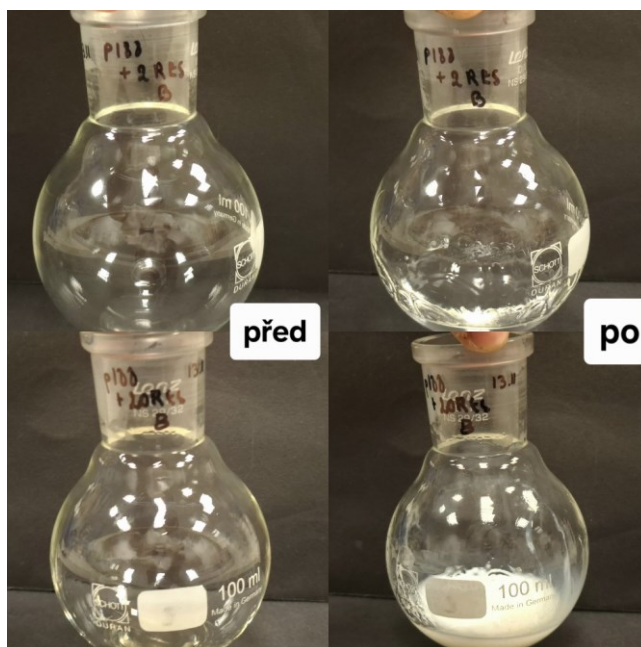
Poloxamer a resveratrol byly rozpuštěny ve 20 ml ethanolu a směs byla míchána na magnetickém míchadle při 250 ot.min⁻¹ po dobu 10–15 min při laboratorní teplotě do úplného rozpuštění. Následně byl ethanol odstraněn vakuovým odpařováním na rotační odparce (Obrázek 27) při teplotě 60 °C a 80 ot.min⁻¹ po dobu 6 min, čímž vznikl tenký film obsahující obě složky.



Obrázek 27 Vakuové odpařování ethanolu při přípravě roztoků

(zdroj: vlastní)

Tento film byl rehydratován přidáním 10 ml destilované vody (Obrázek 28) a následně podroben ultrazvukové dispergaci při teplotě 30 °C po dobu 40 min. Hotové vzorky byly filtrovány přes nylonový filtr (0,45 µm) a uchovávány ve skleněných vialkách při laboratorní teplotě pro další analýzy.

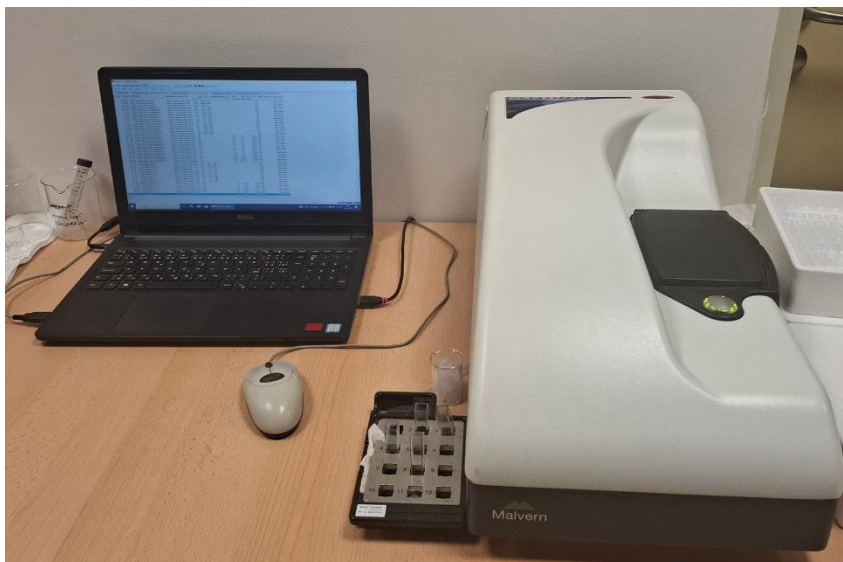


Obrázek 28 Vzorky P188 s různými koncentracemi RES (nahore 2 mg.ml⁻¹), dole 20 mg.ml⁻¹) před a po rehydrataci

(zdroj: vlastní)

7.4 Měření velikosti částic a zeta potenciálu

Měření velikosti částic a zeta potenciálu připravených kopolymerních agregátů bylo provedeno za použití přístroje Zetasizer Nano ZS Malvern (Obrázek 29).



Obrázek 29 Zetasizer Nano ZS Malvern

(zdroj: vlastní)

Pro měření velikosti částic bylo pipetováno 0,5 ml vzorku, ke kterému bylo přidáno 1 ml dvakrát přefiltrované destilované vody (Filtr CA 1,2 μm , Millex®GS). Směs byla převedena do plastové kyvety BRAND (Obrázek 30), která byla následně uzavřena a vložena do přístroje Zetasizer Nano ZS Malvern, kde bylo provedeno měření.



Obrázek 30 Kyveta plastová spektroskopická pro UV oblast, BRAND

(zdroj: vlastní)

Pro měření zeta potenciálu bylo do skleněné kádinky o objemu 10 ml pipetováno 6 μl vzorku, ke kterému byly přidány 3 ml dvakrát přefiltrované destilované vody

(Filtr CA 1,2 μm , Millex®GS). Po promíchání byla výsledná směs pomocí jednorázové injekční stříkačky opatrně převedena do kyvety DTS1070 (Obrázek 31), přičemž bylo dbáno na to, aby ve vzorku nezůstaly vzduchové bubliny, které by mohly ovlivnit přesnost měření.

Získaná data byla automaticky uložena a následně zpracována v programu Microsoft Excel, kde byla vypočtena průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

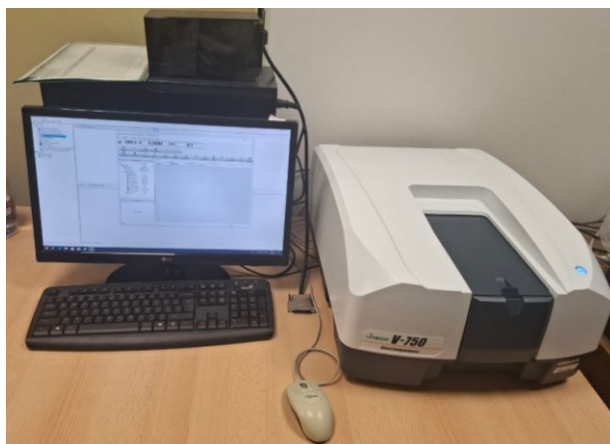


Obrázek 31 Kyveta pro měření zeta potenciálu DTS1070

(zdroj: vlastní)

7.5 Měření enkapsulační účinnosti

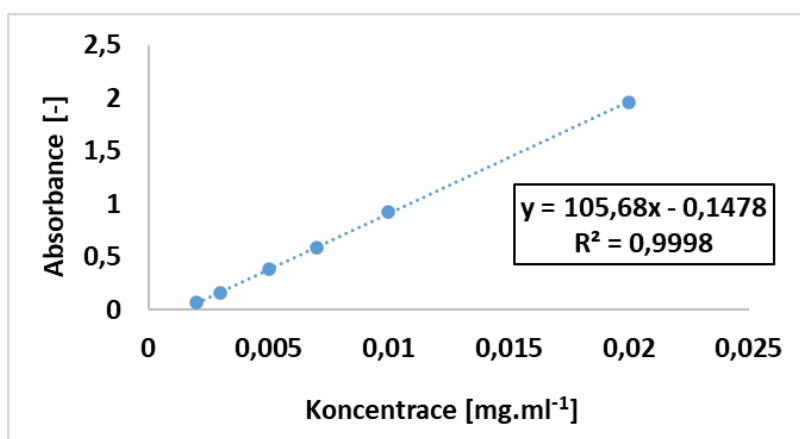
Měření enkapsulační účinnosti bylo provedeno pomocí spektrofotometru photoLab 6600 UV-VIS (Obrázek 32).



Obrázek 32 Spektrofotometr photoLab 6600 UV-VIS

(zdroj: vlastní)

Nejprve byl připraven zásobní roztok smícháním destilované vody a 98 % ethanolu v poměru 1:1. Následně byly připraveny kalibrační roztoky, a to zředěním zásobního roztoku o koncentraci $0,05 \text{ mg.ml}^{-1}$ pomocí předem připraveného vodného roztoku ethanolu. Pro vytvoření kalibrační křivky bylo připraveno roztoky resveratrolu v rozmezí $0,002\text{--}0,02 \text{ mg.ml}^{-1}$ a jejich absorbance byla měřena při 317 nm (maximální vlnová délka získaná měřením spektra resveratrolu). Hodnoty absorbance byly vyneseny do grafu a kalibrační křivka byla určena pomocí lineární regrese. (Obrázek 33).



Obrázek 33 Kalibrační přímka pro RES při vlnové délce 375 nm

(zdroj: vlastní)

Před samotnou analýzou enkapsulační účinnosti byly odebrány 2 ml vzorku, k nimž bylo přidáno 2 ml roztoku ethanol:voda. Následně proběhla centrifugace (Centrifuga EBA 20, Hettich ZENTRIFUGEN) při 5000 ot.min^{-1} po dobu 10 minut a supernatant byl přefiltrován přes Filtr CA $0,45 \mu\text{m}$, Millex®GS (Obrázek 34). Směs byla přelita do plastové UV kyvety BRAND (Obrázek 30), která byla vložena do spektrofotometru. Následně byly měřeny absorbance, které byly využity pro výpočet enkapsulační účinnosti. Výsledky jsou průměrem ze tří stanovení.



Obrázek 34 Postup přípravy vzorků pro měření enkapsulační účinnosti
(zdroj: vlastní)

Data byla zpracována v Microsoft Excel pro výpočet enkapsulační účinnosti podle vztahu (5).

$$\%EE_{RES} = \left(1 - \frac{RES_{volný}}{RES_{původní}}\right) * 100 \quad (5)$$

Kde:

$\%EE_{RES}$ – podíl enkapsulovaného resveratrolu [%]

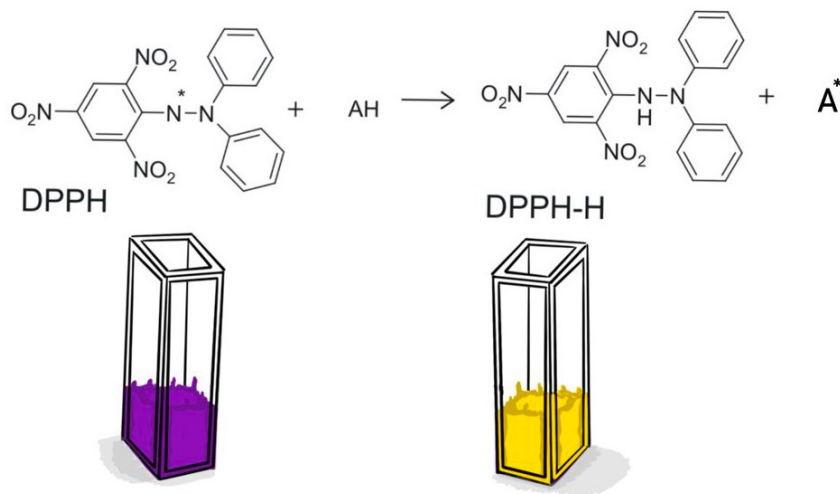
$RES_{volný}$ – koncentrace resveratrolu ve volné formě [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

$RES_{původní}$ – počáteční koncentrace resveratrolu [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

7.6 Měření antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita se stanovuje za účelem zjištění schopnosti látek eliminovat volné radikály, které mohou poškozovat buňky a tkáně. K nejběžnějším postupům patří metoda DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)) nebo FRAP (antioxidační schopnost redukce železa).

Tyto přístupy sledují interakce antioxidantů s volnými radikály, přičemž jejich neutralizace probíhá buď prostřednictvím přenosu vodíkového atomu, nebo elektronu. Díky své univerzálnosti jsou tyto metody vhodné pro analýzu různorodých látek, včetně přírodních výtažků i syntetických sloučenin.



Obrázek 35 Princip měření antioxidační aktivity pomocí DPPH

(zdroj: vlastní)

Metoda DPPH je založena na schopnosti antioxidantů redukovat stabilní radikál DPPH, který má fialovou barvu a absorpční maximum při 517 nm. Při reakci s antioxidanty dochází ke změně barvy na světle žlutou, což umožňuje stanovení antioxidační kapacity vzorku (Obrázek 35). Měření probíhá smícháním roztoku DPPH v ethanolu nebo methanolu s analyzovaným vzorkem, následně se po inkubační době změří absorbance pomocí spektrofotometru. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentuální úbytek DPPH nebo v ekvivalentech antioxidantů.

Procentuální pokles absorbance byl stanoven pomocí vztahu (6), který umožňuje přesně kvantifikovat změnu intenzity absorbance během měření.

$$\%AA_{RES} = \left(\frac{A_{blank} - A_{RES}}{A_{RES}} \right) * 100 \quad (6)$$

Kde:

$\%AA_{RES}$ – antioxidační aktivita jako úbytek absorbance [%]

A_{blank} – absorbance 0,1 mM roztoku DPPH v ethanolu měřená při 517 nm ve srovnání s referenční hodnotou

A_{RES} – absorbance vzorku naměřená při 517 nm ve srovnání s referenční hodnotou

Měření antioxidační aktivity metodou DPPH bylo provedeno na spektrofotometru photoLab 6600 UV-VIS (Obrázek 32). Do skleněné vialky bylo pipetováno 200 μ l vzorku s RES, ke kterému bylo přidáno 2 ml 0,1 mM roztoku DPPH v ethanolu. Směs byla důkladně promíchána a ponechána 30 minut ve tmě, aby mohla proběhnout reakce mezi antioxidanty a DPPH radikály. Po uplynutí inkubační doby byl vzorek přelit do kyvety a okamžitě byla změřena absorbance.

7.7 Měření pH roztoků

Měření pH bylo provedeno pomocí pH metru CPH 51 (Obrázek 36) s kombinovanou elektrodou HC 103, která byla před použitím zkalibrována podle přiloženého návodu.



Obrázek 36 Bariérový pH metr CPH 51 s kombinovanou pH elektrodou HC 103

(zdroj: vlastní)

7.8 Stanovení antibakteriální účinnosti

Pro hodnocení antibakteriálních vlastností vzorků resveratrolu byla použita agarová disková difuzní metoda ke stanovení aktivity proti *Staphylococcus aureus* (grampozitivní bakterie) a *Escherichia coli* (gramnegativní bakterie). Testy byly provedeny na Mueller-Hintonově agaru (MHa). Nejprve se připravilo živné médium navážením 8,4 g suchého MHa a 6,0 g agaru na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Výsledná směs byla rozpuštěna ve 400 ml destilované vody. Fyziologický roztok byl připraven zvlášť smícháním 8,5 g NaCl s 1000 ml destilované vody. Obě směsi byly sterilizovány v autoklávu

při 120 °C po dobu 90 minut, poté byl sterilní agar nalit do Petriho misek a ponechán ztuhnout.

K získání inokula byla použita čistá bakteriální kultura, která byla pomocí sterilního nástroje přenesena do fyziologického roztoku na požadovanou hustotu bakteriální suspenze 0,5 McF. Poté bylo 1000 µl tohoto roztoku rovnoměrně rozděleno na povrch ztuhlého agaru pomocí mikropipety. Na připravené médium byly umístěny dva sterilní disky o průměru 6 mm, na něž bylo dávkováno 10 µl testovaného roztoku. Petriho misky byly poté umístěny do inkubátoru, kde byla po dobu 24 hodin udržována teplota 37 °C.

Na konci inkubační doby byla analyzována antibakteriální aktivita, kdy ukazatelem účinnosti vzorků je zóna inhibice růstu bakterií kolem disků.

8 VÝSLEDKY A DISKUSE

8.1 Povrchové napětí zásobních roztoků

Měření povrchového napětí vodných roztoků P407 a P188 umožňuje stanovit jejich vliv na mezifázové vlastnosti systému. Jak je uvedeno v Tabulce 4, získané hodnoty povrchového napětí se pohybují v rozmezí 38–40 mN.m⁻¹.

Tabulka 4 Povrchové napětí zásobních roztoků

Vzorek	Povrchové napětí [mN.m ⁻¹]	Teplota [°C]
P407	39,1±0,03	25,0±0,01
P407/P188	38,1±0,01	25,2±0,00
P188	39,7±0,02	25,3±0,03
10/P407	39,8±0,00	25,5±0,01

(zdroj: vlastní)

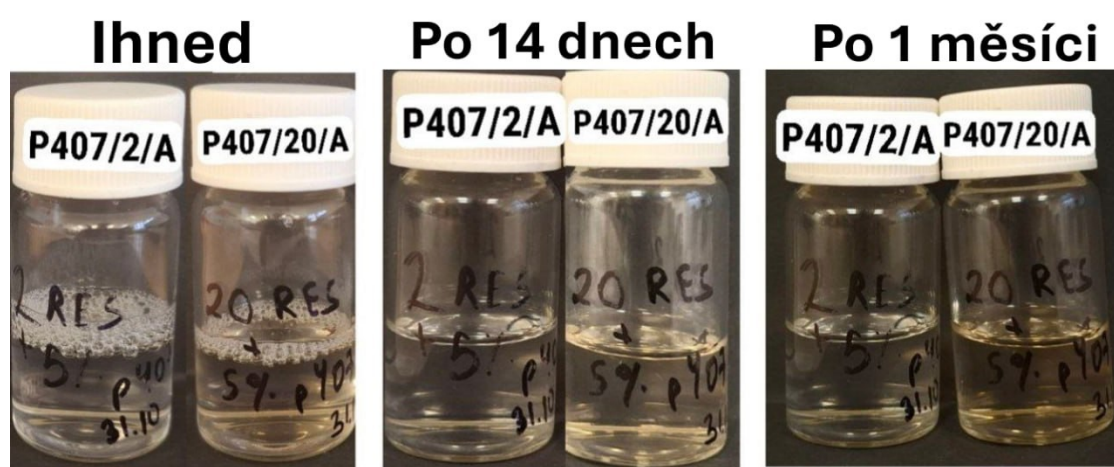
Nejnižší hodnota povrchového napětí ($38,1 \pm 0,01$ mN.m⁻¹) byla zaznamenána u směsného roztoku P407/P188, což je důkazem synergického účinku této kombinace poloxamerů. Zvýšení koncentrace P407 na 10 % (vzorek označen 10/P407) nezpůsobilo významné změny povrchového napětí, což vypovídá o možném vlivu nasycení mezifázového povrchu molekulami polymerního surfaktantu, po kterém již další zvyšování koncentrace nemá významný vliv na energetický stav systému.

Studie Kancharla a kol. [42] ukázala, že interakce poloxamerů s iontovými povrchově aktivními látkami závisí na jejich hydrofobicitě, což potvrzuje adsorpci P188 na mezifázovém povrchu a jejím vlivu na povrchové napětí roztoku. Rao a spol. navíc zjistili [43], že změny koncentrace poloxamerů ve vodných roztocích nezpůsobují výrazné výkyvy povrchového napětí (38–41 mN.m⁻¹), což koreluje s výsledky získanými v naší studii.

Studie tedy potvrdila příznivý vliv kombinace použitých poloxamerů P407 a P188, což může být způsobeno jejich vzájemnou adsorpcí na mezifázovém povrchu. Současně zvýšení koncentrace P407 na 10 % nemá na změnu povrchového napětí významný vliv, což je v souladu s předchozími literárními studiemi.

8.2 Vizuální hodnocení

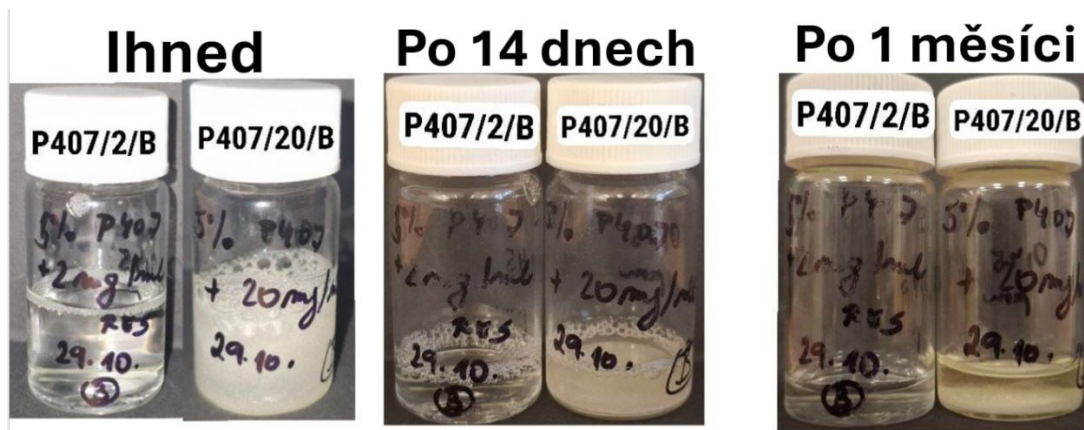
Vzhled vzorků v závislosti na způsobu přípravy a koncentraci resveratrolu lze pozorovat na následujících obrázcích (Obr. 37 až 42).



Obrázek 37 Vizuální porovnání vzorků P407/2/A a P407/20/A

(zdroj: vlastní)

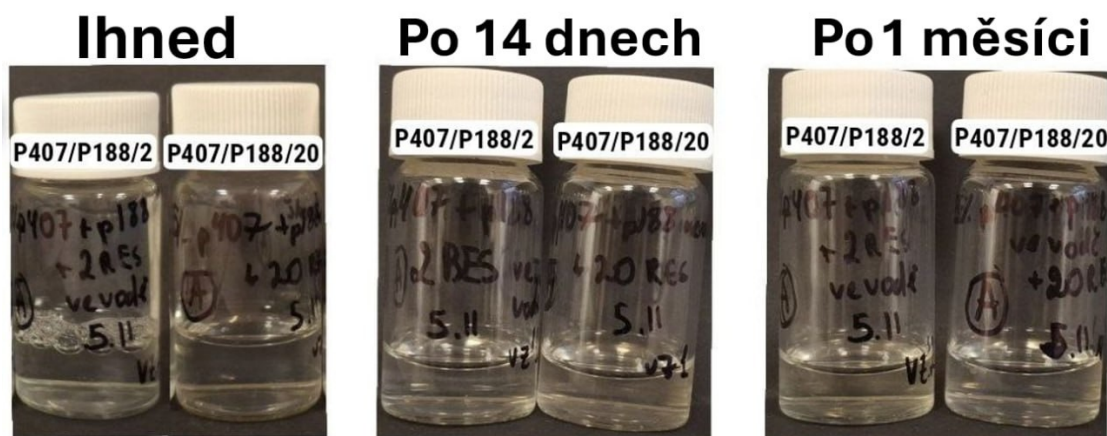
Obrázek 37 ukazuje, že vzorky na bázi poloxameru P407 jsou homogenní a čiré, s jemným nažloutlým nádechem, který je intenzivnější v případě vyšší koncentrace resveratrolu (P407/20/A). V čase nedošlo k výrazným změnám micelárních roztoků, tj. nebyly zaznamenány projevy sedimentace, či agregace. Pouze u vzorku P407/20/A lze po jednom měsíci pozorovat více nažloutlý odstín, což může naznačovat částečnou degradaci resveratrolu.



Obrázek 38 Vizuální porovnání vzorků P407/2/B a P407/20/B

(zdroj: vlastní)

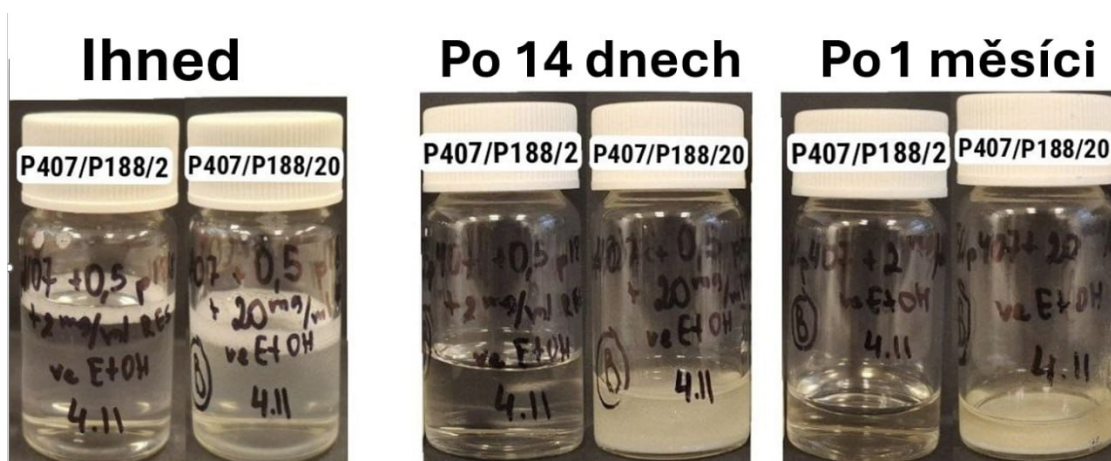
Vzorky na bázi P407 získané metodou hydratace tenkého filmu jsou znázorněny na obrázku 38. Na rozdíl od metody A jsou zde více patrné rozdíly mezi nižší a vyšší koncentrací antioxidantu, a také v čase. Zatímco směsi s 2 %hm. RES jsou víceméně homogenní a čiré, u vzorků s vyšším obsahem antioxidantu se projevuje mléčný zákal, což může být důsledkem agregátní a následně i gravitační nestability.



Obrázek 39 Vizuální porovnání vzorků P407/P188/2/A P407/P188/20/A

(zdroj: vlastní)

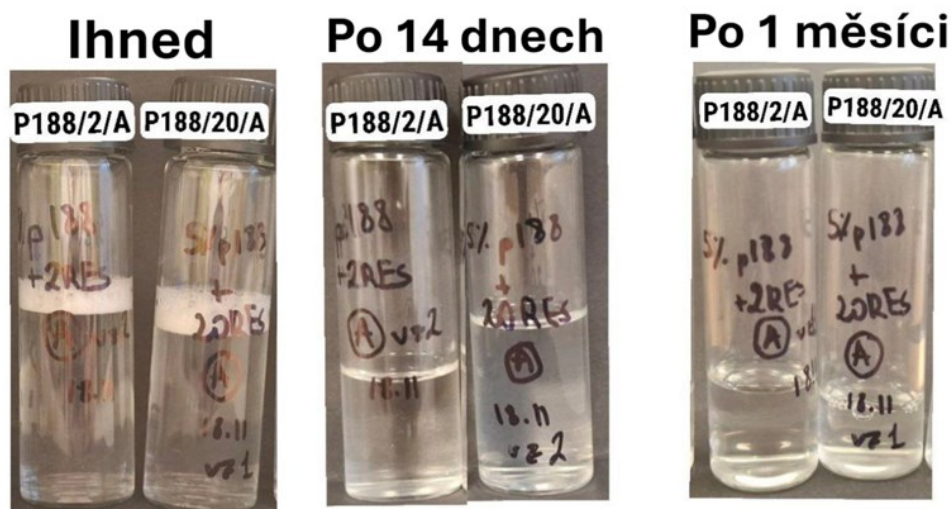
Z obrázku 39 je patrné, že vzorky na bázi kombinace poloxamerů P407/P188/2/A P407/P188/20/A připravené ekvilibrační metodou jsou čiré a homogenní bez viditelných projevů nehomogenity. Ani po 14 dnech a 1 měsíci nedochází k výrazným vizuálním změnám, vzorky zůstávají čiré, bez sedimentu nebo zákalu, což svědčí o stabilitě těchto micelárních systémů.



Obrázek 40 Vizuální porovnání vzorků P407/P188/2/B a P407/P188/20/B

(zdroj: vlastní)

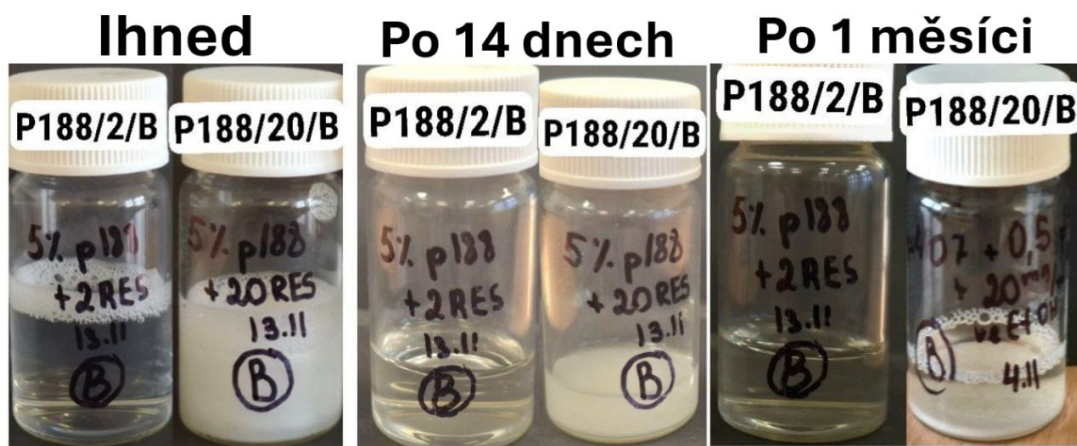
Obrázek 40 ukazuje směsné micelární systémy připravené metodou B, tedy hydratací tenkého filmu. Zde je patrný rozdíl mezi vzorky s obsahem nižší a vyšší koncentrace resveratrolu. Zatímco směsi s 2 %hm. RES jsou víceméně čiré, tak vzorky s 20 %hm. resveratrolu jsou mléčně zakalené s náznaky fázové separace.



Obrázek 41 Vizuální porovnání vzorků P188/2/A a P188/20/A

(zdroj: vlastní)

Na obrázku 41 lze vidět vzorky na bázi kopolymeru P188 připravené metodou A, které jsou poměrně homogenní a čiré s jemným nažloutlým nádechem. Ve sledovaném čase nedošlo k výrazným barevným změnám ani k separaci fází micelárních systémů, tudíž lze potvrdit jejich dobrou stabilitu.



Obrázek 42 Stabilita vzorků P188/2/B a P188/20/B

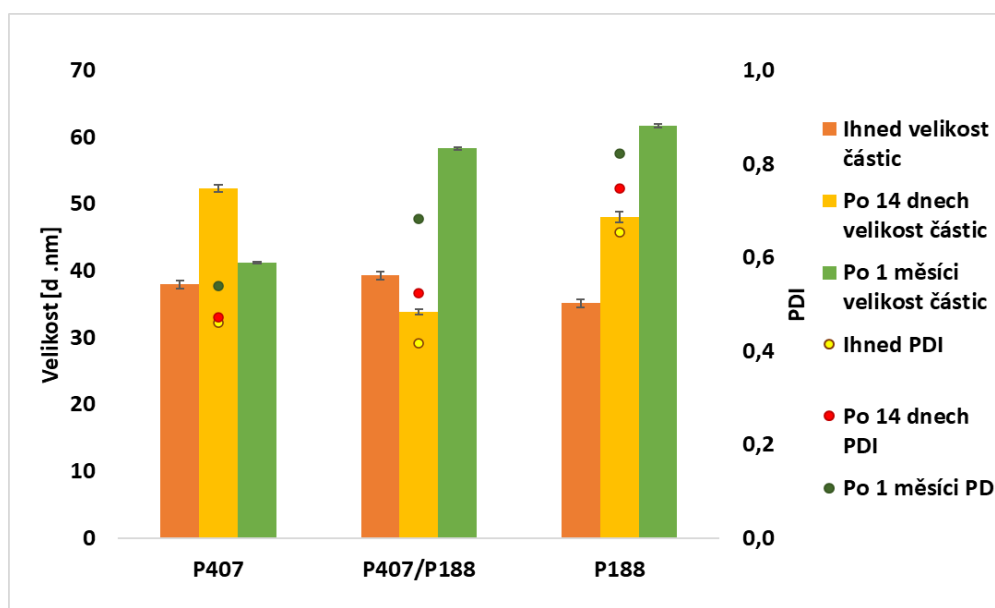
(zdroj: vlastní)

Odlišnou situaci lze pozorovat na obrázku 42, tedy u vzorků na bázi stejného poloxameru 188, ale připravených metodou hydratace tenkého filmu. Zatímco vzorek P188/2/B je ihned po přípravě čirý, systém s vyšší koncentrací resveratrolu vykazuje výrazný mléčný zákal. Po jednom měsíci získává vzorek P188/2/B nažloutlý odstín, což může být způsobeno degradací resveratrolu. U vzorku P188/20/B se po této době projevuje fázová separace doprovázená sedimentací.

Výsledky vizuálního hodnocení tedy naznačují, že jak metoda přípravy, tak koncentrace aktivní látky mohou významně ovlivnit výsledný charakter připraveného nosného systému, a tedy i stabilitu a biologickou dostupnost dané aktivní látky. Na základě vizuálního pozorování lze shrnout, že vzorky připravené ekvilibrační metodou prokázaly lepší stabilitu v čase, i v případě vyšší koncentrace antioxidantu resveratrolu.

8.3 Velikost částic

Následující výsledky představují vliv složení kopolymerních nosičů, resp. koncentrace enkapsulovaného resveratrolu na velikost částic a stabilitu micelárních systémů v čase. Analýza byla provedena pro vzorky poloxamerů bez a s obsahem RES, připravených pomocí dvou metod, a to ekvilibrační (A) a hydratace tenkého filmu (B).

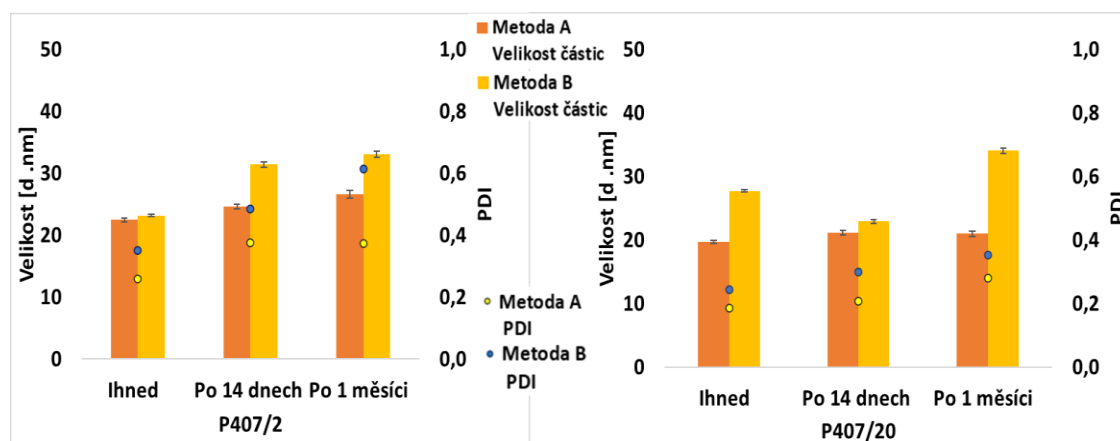


Obrázek 43 Velikost částic a polydispersita zásobních roztoků poloxamerů

(zdroj: vlastní)

Obrázek 43 shrnuje výsledky měření roztoků poloxamerů bez RES, jejichž velikost se pohybovala od cca 35,13 nm do 61,73 nm, v závislosti na konkrétním

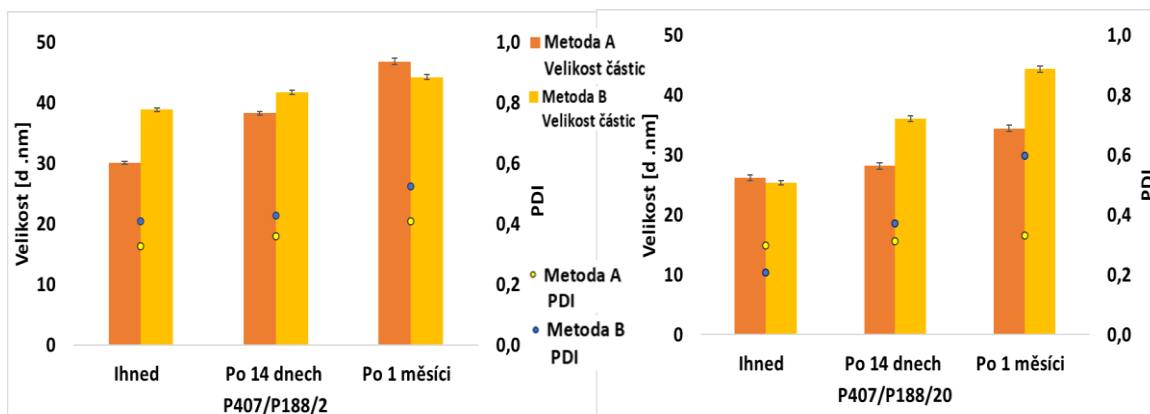
složení nosiče a době měření od přípravy. Srovnání vzorků různých poloxamerů měřených ihned po přípravě však neodhalilo výrazné změny velikostí částic. Měření po 2 a 4 týdnech prokázalo nárůst velikostí micel, dokládající mírnou tendenci k agregaci. Současně se v čase zvýšil index polydisperzity. Z testovaných nosičů se zde jako nejvíce stabilní prokázal vzorek na bázi P407. Naopak největší změny jsou pozorovány u P188, kde se počáteční velikost částic (35,13 nm) po měsíci zvýšila zhruba na 62 nm.



Obrázek 44 Velikost částic a polydisperzita vzorků P407/2 a P407/20

(zdroj: vlastní)

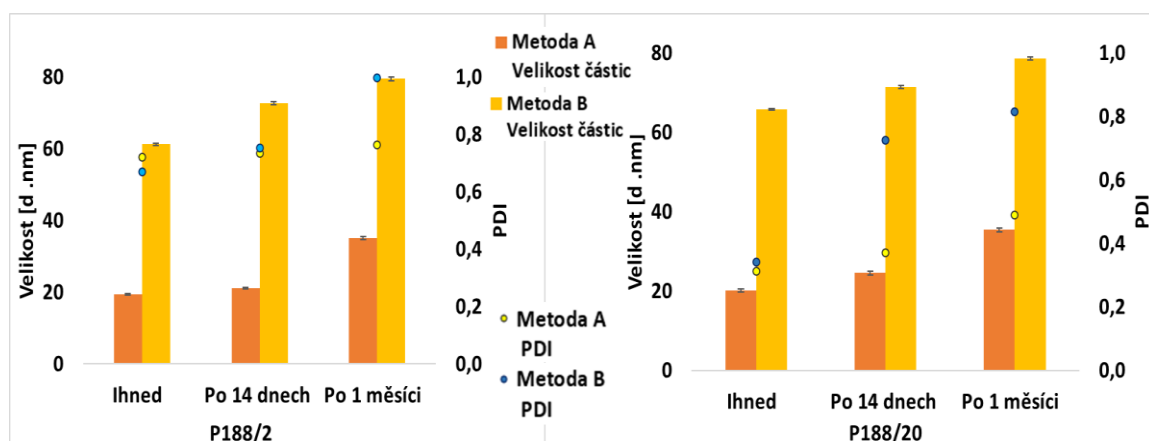
Na dalších grafech jsou znázorněny výsledky měření velikostí částic u vzorků s obsahem resveratrolu připravených různými metodami. Obrázek 44 znázorňuje, že velikosti kopolymerních částic připravených ekvilibrační metodou jsou nižší (19,6 nm) a vykazují minimální změny v čase. Tento fakt lze potvrdit i distribučními křivkami na Obr. 47, kde je patrný stabilní monomodální pík v nanometrickém rozsahu jak bezprostředně po přípravě, tak po měsíčním skladování. Mírný posun píku naznačuje drobné změny ve struktuře micel, ovšem celková stabilita systému je zachována. Na druhou stranu, u metody B byly zaznamenány hodnoty vyšší a současně docházelo k výraznějšímu nárůstu částic v čase (na 34,1 nm po 1 měsíci). Zvýšení koncentrace resveratrolu na 20 %hm. mělo příznivý vliv na měřený index polydisperzity.



Obrázek 45 Velikost částic a polydisperzita vzorků P407/P188/2 a P407/P188/20

(zdroj: vlastní)

Podobně jako u samotného P407, poskytují vzorky na bázi směsi P407/P188 připravené metodou A menší počáteční velikost částic (30 nm) ve srovnání s metodou B (40 nm) (Obrázek 45). V průběhu času dochází u obou metod k mírnému nárůstu velikosti, na cca 45 nm v případě nižší koncentrace RES, a na 34 až 44 nm u micel s vyšším obsahem resveratrolu. PDI zůstává relativně stabilní, což svědčí o poměrně jednotné distribuci částic v systému. Pouze u vzorku P407/P188/20 po 1 měsíci dochází k vyššímu nárůstu PDI, což naznačuje širší distribuci velikostí částic. Křivka distribuce velikosti částic na Obrázku 48 ukazuje, že hlavní pík v nanorozmezí zůstává zachován i po měsíci skladování, ovšem objevuje se další populace větších částic v oblasti mikrorozměrů.

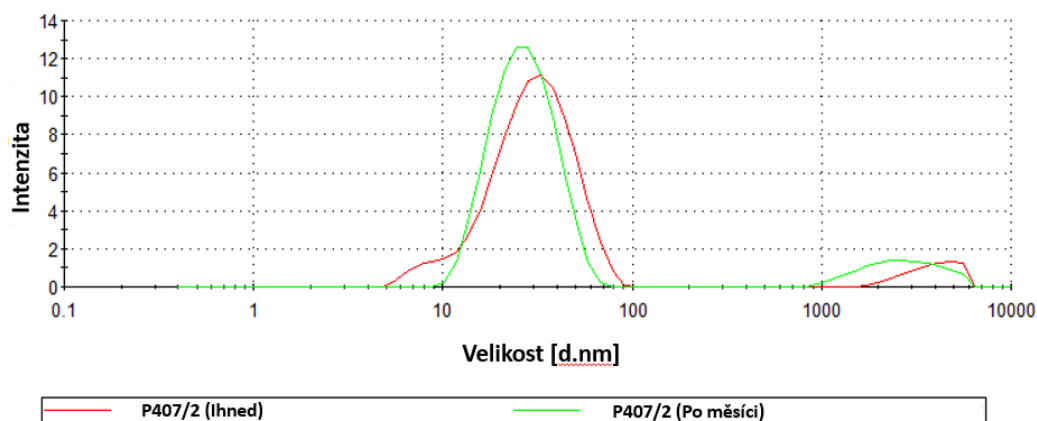


Obrázek 46 Velikost částic a polydisperzita vzorků P188/2 a P188/20

(zdroj: vlastní)

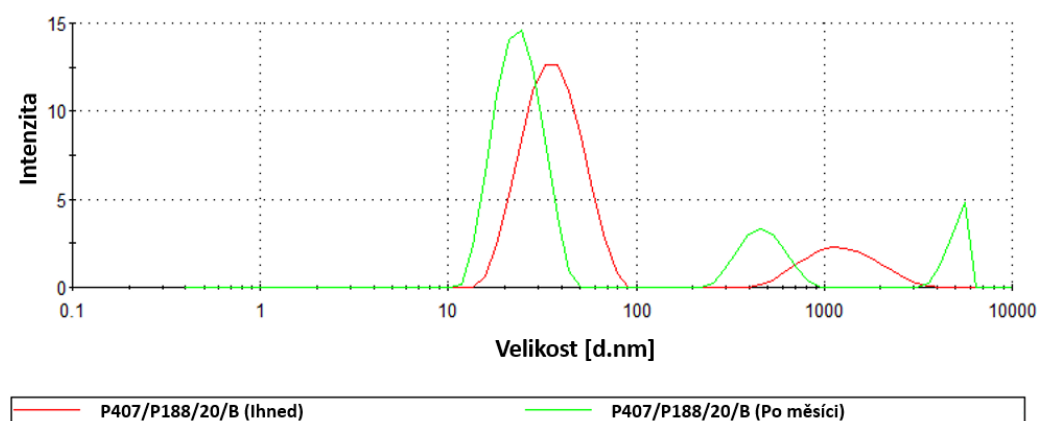
V porovnání s výsledky předchozích nosičů lze u systému na bázi samotného P188 vidět výrazně větší výkyvy v měřených parametrech, a to jak s ohledem na použitou metodu, tak koncentraci antioxidantu (Obrázek 46). Zatímco vzorky P188/2 připravené ekvilibrační

metodou vykazují velmi malou počáteční velikost částic okolo 20 nm, systémy připravené metodou B vytvářejí micelární agregáty okolo 61 nm. Současně jsou výrazně vyšší i hodnoty PDI, naznačující vysoký stupeň polydisperzity. V případě P188/20 je pozorován stejný trend: metoda B poskytuje největší částice 75 nm bezprostředně po přípravě, jejichž velikost zůstává v průběhu času víceméně stabilní. Metoda A poskytuje mnohem menší částice (20,1 nm), které se v průběhu času zvětšují na 35,4 nm. Polydisperzita je ovšem, podobně jako u vzorků s nižším obsahem RES, vyšší u metody B.



Obrázek 47 Distribuční křivky velikosti částic vzorku P407/2/A

(zdroj: vlastní)



Obrázek 48 Distribuční křivky velikosti částic vzorku P407/P188/20/B

(zdroj: vlastní)

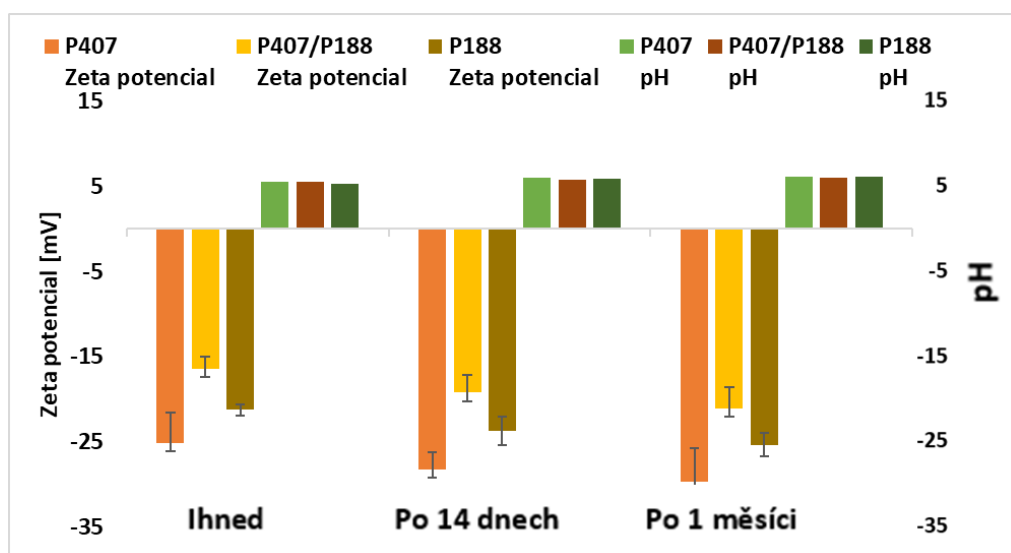
Výsledky potvrzují, že systémy na bázi P407, případně jeho kombinace s P188 poskytují lepší stabilitu částic, zatímco micely samotného poloxameru P188 jsou více náchylné k agregaci v čase. Studie Lazarové a kol. [61], která se zabývá micelárními systémy na bázi Pluronicu F127 a P123 s enkapsulovaným resveratrolem, prokázala průměrnou

velikost částic 33 nm, což je srovnatelný výsledek s naším měřením. Srovnatelnou velikost částic (30 nm) tvořených micelami Pluronic F68 prokázali autoři studie Cai a kol. [62] Bylo také zjištěno, že stabilita závisí na vzájemném poměru jednotlivých kopolymerů. Studie také potvrzuje, že směsi kopolymerních surfaktantů typu Pluronic může zlepšit stabilitu systému, což je v souladu se skutečností, že kombinace P407/P188 v našich měřeních vedla ke snížení agregační nestability.

Lze tedy konstatovat, že pomocí metody A byly připraveny kopolymerní částice menší velikosti 20–30 nm, které zůstávají stabilní v čase, zatímco metodou B byly produkovány větší micelární agregáty o velikosti 40–60 nm s tendencí agregovat v čase, což potvrzuje i vliv metody přípravy na stabilitu micel. Co se týká složení formulací, částice na bázi P407 poskytují nejlepší stabilitu v čase, zatímco systémy na bázi samotného P188 prokázaly vyšší agregační nestabilitu.

8.4 Zeta potenciál

Měření zeta potenciálu a jeho změn v čase umožňuje posoudit stabilitu micelárních systémů s ohledem na případné elektrostatické interakce mezi částicemi a potenciální tendenci k agregaci.

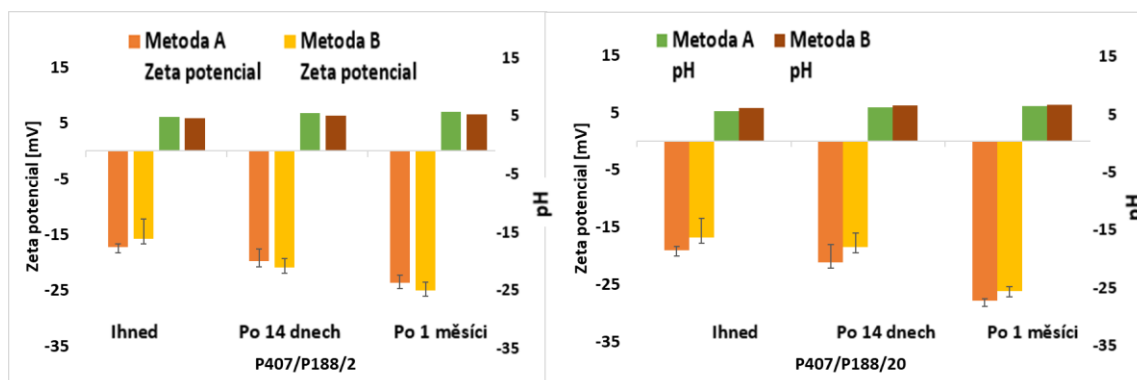


Obrázek 49 Zeta potenciál zásobních roztoků poloxamerů

(zdroj: vlastní)

Obrázek 49 ukazuje změny zeta potenciálu a pH v micelárních roztocích P407, P407/P188 a P188 v průběhu jednoho měsíce. Hodnoty zeta potenciálu zůstávají ve všech

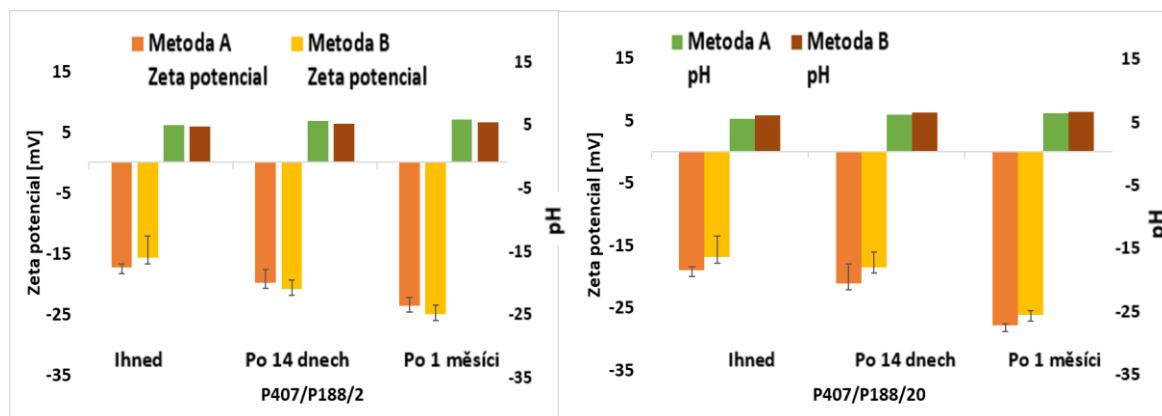
případech záporné, a to zhruba v rozsahu -20 až -30 mV, a poměrně stabilní v čase. Výrazně se během sledované doby nemění ani hodnoty pH roztoků, které se pohybují mezi 5,5–6.



Obrázek 50 Zeta potenciál systémů P407/2 a P407/20

(zdroj: vlastní)

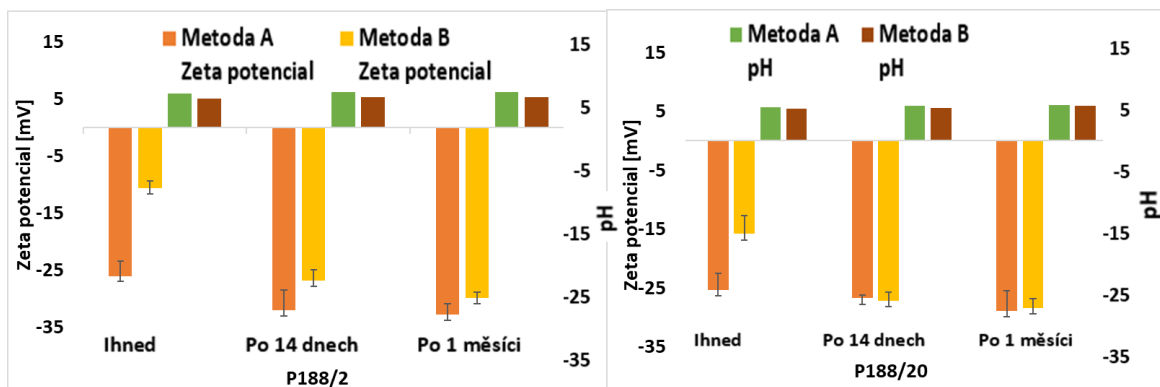
Enkapsulace resveratrolu do kopolymerních micel výrazně neovlivnila náboj, ani pH vzorků. Z obrázku 50 vyplývá, že počáteční zeta potenciál systémů P407/2 a P407/20 je v rozsahu (-18 až -23 mV), bez ohledu na zvolenou metodu přípravy a koncentraci antioxidantu. Po měsíci byl pozorován mírný posun náboje k více záporným hodnotám (-24 až -29 mV). Hodnoty pH ve všech systémech zůstávají prakticky nezměněny (cca 6,5).



Obrázek 51 Zeta potenciál systémů P407/P188/2 a P407/P188/20

(zdroj: vlastní)

Záporný zeta potenciál (-16,8 až -19,1 mV) byl získán i měřením nosičů na bázi kombinace P407/P188 (Obrázek 51). Tyto hodnoty ještě klesly v čase (až na cca -27 mV po 1 měsíci bez ohledu na použitou metodu). Hodnoty pH (6,5–7) ve všech systémech zůstaly během sledované doby prakticky nezměněny.



Obrázek 52 Zeta potenciál systémů P188/2 a P188/20

(zdroj: vlastní)

V případě vzorků na bázi poloxameru P188 lze vidět větší rozdíly počátečních hodnot zeta potenciálu v závislosti na metodě přípravy (Obrázek 52). Podobně jako v předchozím směsném systému zde v čase dochází k dalšímu poklesu hodnot, přičemž nejvíce záporný potenciál (-32,9 mV) byl zaznamenán u vzorku P188/2 připraveného ekvilibrační metodou. Hodnoty pH se během celé sledované doby držely okolo 6.

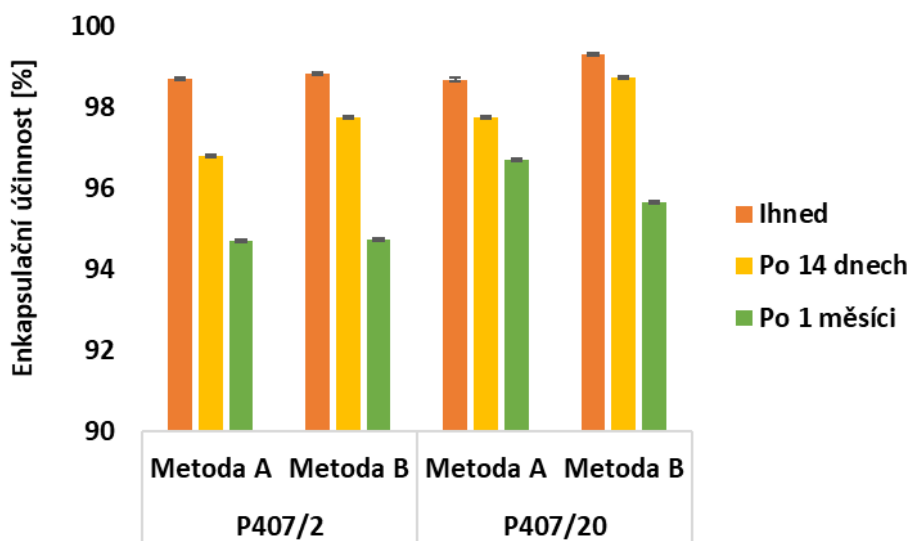
V práci [61] byl prokázán u připravených micel typu Pluronic F127/P123 (1:1) zeta potenciál $-4,00 \pm 0,06$ mV, což je výrazně méně záporné než námi získané hodnoty. Podle studie Ainurofiqa a spol. [67] se zeta potenciál nanokrystalů resveratrolu inkorporovaných do mesoporézního manitolu pohyboval v rozmezí -11,1 až -33,7 mV. Autoři poznamenali, že zeta potenciál nebyl statisticky významným parametrem kvůli přítomnosti neiontových povrchově aktivních látek a polymerů, které povrchový náboj maskovaly. Na základě získaných výsledků lze potvrdit záporný zeta potenciál všech studovaných kopolymerních systémů, a to v rozmezí -16,8 až -32,9 mV v závislosti na složení, způsobu přípravy a době skladování. Tento fakt dokládá významný vliv typu poloxameru a složení nosiče.

8.5 Enkapsulační účinnost

Stanovení enkapsulační účinnosti napomáhá stanovit, jaké množství aktivní látky bylo úspěšně inkorporováno do nosiče, což ovlivňuje jeho stabilitu a biologickou dostupnost, přičemž závisí na vlastnostech nosiče, velikosti částic a složení rozpouštědla.

Stanovení RES ve vzorcích bylo provedeno pomocí metody kalibrační přímky, kdy jednotlivé kalibrační roztoky byly měřeny pomocí UV-VIS spektrofotometrie při zvolené vlnové délce 317 nm proti referenci (směs ethanol:voda 1:1), což umožnilo získat

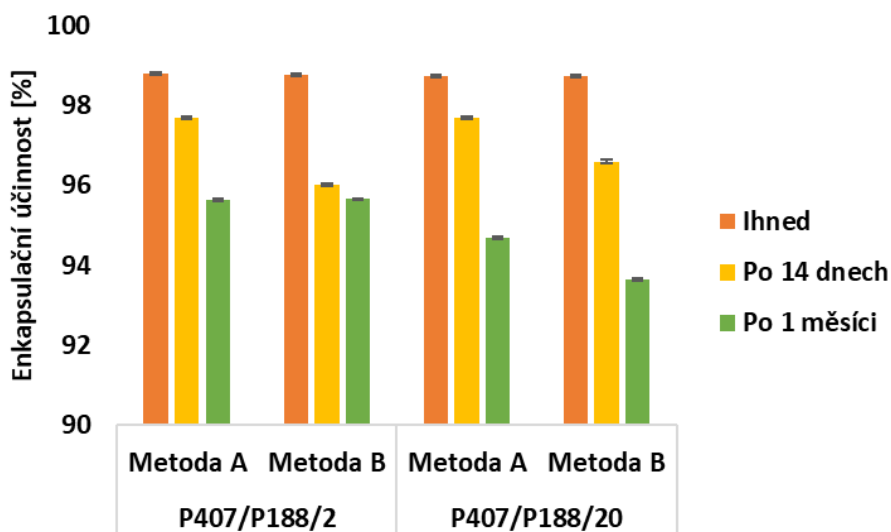
závislost absorpance na koncentraci. Na základě získaných údajů byla sestrojena kalibrační křivka a odpovídající rovnice lineární regrese (Obrázek 33), pomocí níž byla vyhodnocena enkapsulační účinnost.



Obrázek 53 Enkapsulační účinnost systémů P407/2 a P407/20

(zdroj: vlastní)

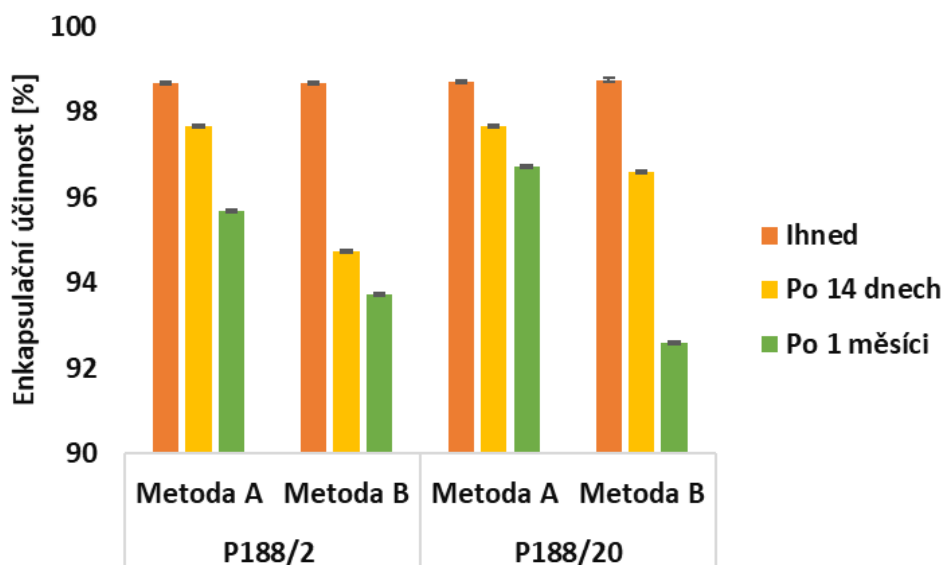
Na Obrázku 53 je graf znázorňující účinnost enkapsulace systémů P407/2 a P407/20, která je ihned po přípravě, jak metodou A, tak i B, vysoká (98–99 %). V průběhu času dochází k postupnému mírnému poklesu, ovšem i po jednom měsíci se hodnoty pohybují nad 94 %, což vypovídá o dobré stabilitě připravených nosičů.



Obrázek 54 Enkapsulační účinnost systémů P407/P188/2 a P407/P188/20

(zdroj: vlastní)

Podobných vysokých hodnot enkapsulační účinnosti (98 až 99 %) bylo dosaženo u směsných kopolymerních agregátů (Obrázek 54). V čase byl zaznamenán mírný pokles, s nejnižší hodnotou (93,6 %) v případě vzorku P407/P188 a 20 hm%. resveratrolu.



Obrázek 55 Enkapsulační účinnost systémů P188/2 a P188/20

(zdroj: vlastní)

Systémy P188/2 a P188/20 (Obrázek 55) vykazovaly po počátečních vysokých hodnotách enkapsulační účinnosti (98–99 %) o něco výraznější pokles, a to zejména u metody hydratace tenkého filmu (na cca 93 % po 1 měsíci skladování).

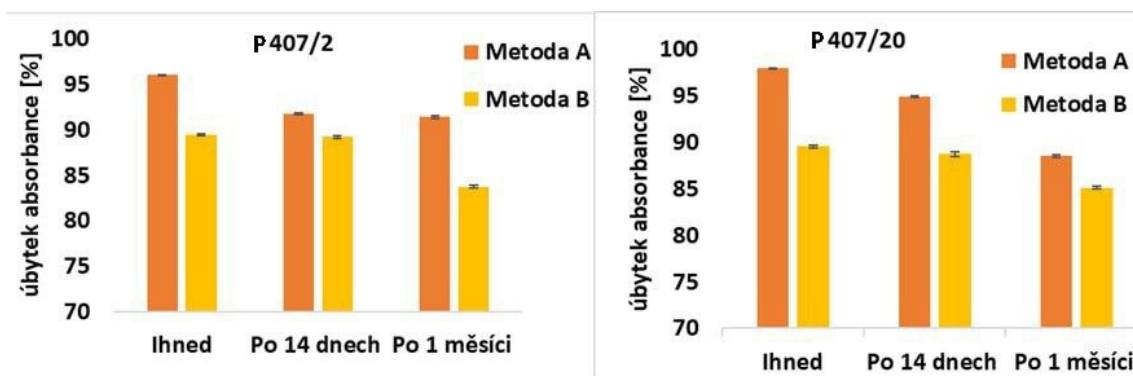
Výsledky studie potvrzují, že účinnost zapouzdření je u všech systémů velmi vysoká (98–99 %), ale v průběhu času postupně mírně klesá. V [61] je také uvedeno, že micelární systémy mají vysokou počáteční enkapsulační účinnost (98–100 %) pro hydrofobní sloučeniny, což je v souladu s našimi pozorováními.

Podobný trend byl pozorován v publikaci [62], kde účinnost enkapsulace kurkuminu do micel na bázi Pluronicu F68 (P188) závisela na způsobu přípravy. Na základě našich výsledků lze potvrdit, že metoda A poskytuje stabilnější hodnoty enkapsulační účinnosti v čase, zatímco metoda B vykazuje o něco výraznější pokles tohoto parametru.

Kombinace P188 s P407 příznivě ovlivňuje schopnost těchto kopolymerních nosičů enkapsulovat resveratrol, ovšem při jeho vyšší koncentraci dochází k výraznějšímu poklesu enkapsulačního účinku, což je v souladu s literaturou.

8.6 Antioxidační aktivita

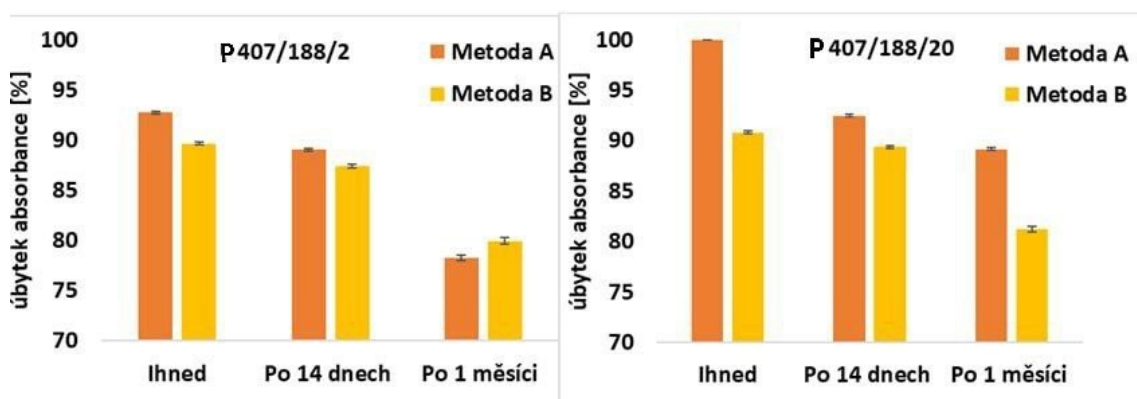
Měření antioxidační účinnosti připravených vzorků umožňuje zjistit vliv enkapsulace na schopnost chránit aktivní látky před degradací. Za tímto účelem byly analyzovány změny absorbance v čase metodou DPPH, a to ihned po přípravě, dále pak po 14 dnech a po 1 měsíci skladování ve tmě při laboratorní teplotě.



Obrázek 56 Úbytek absorbance pro vzorky P407/2 a P407/20

(zdroj: vlastní)

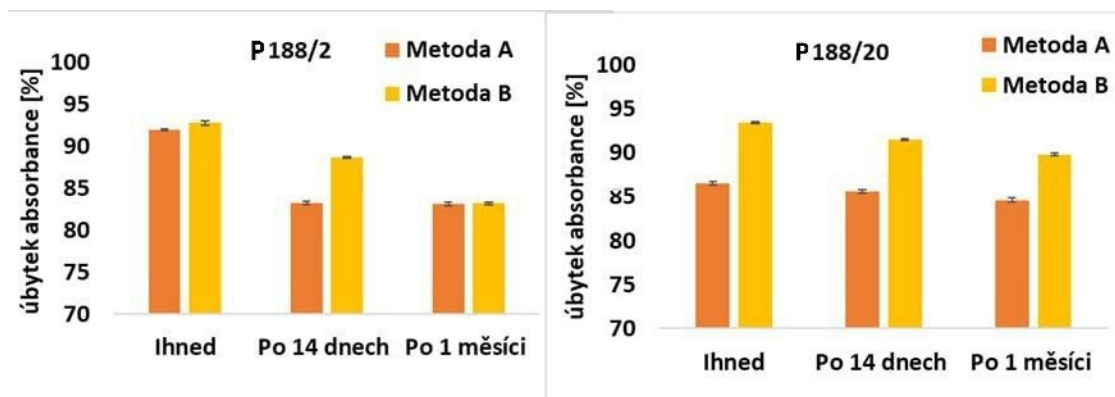
Z obrázku 56 je patrné, že metoda A vykazuje vyšší antioxidační aktivitu (95–97 %), zatímco vzorky připravené metodou B prokázaly hodnoty o něco nižší, a to kolem 90 %. V průběhu času dochází k poklesu aktivity u obou metod, zejména po jednom měsíci (na 91,4 % a 88,6 % u metody A a 83,7 % a 85,1 % u metody B). To naznačuje lepší zachování antioxidačních vlastností u kopolymerních micel s resveratrolem připravených pomocí ekvilibrační metody.



Obrázek 57 Úbytek absorbance pro vzorky P407/P188/2 a P407/P188/20

(zdroj: vlastní)

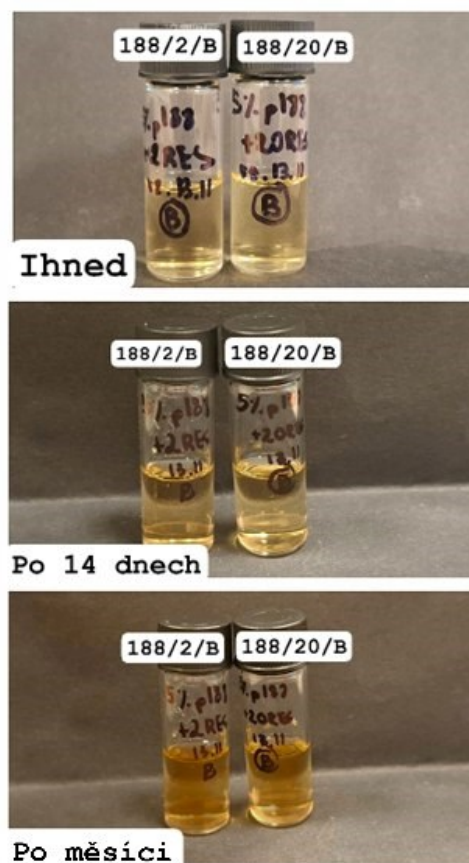
Z obrázku 57 je patrné, že počáteční hodnoty v obou systému jsou vysoké 90–100 %, přičemž metoda A vykazuje mírně vyšší aktivitu. Po 14 dnech zůstává aktivita stabilní, ale po 1 měsíci je pozorován výraznější pokles (u P407/P188/2 na 78,2 % metoda A, a na 79,9 % metoda B).



Obrázek 58 Úbytek absorbance pro vzorky P188/2 a P188/20

(zdroj: vlastní)

Vysoká antioxidační aktivita (91 až 93 %) byla prokázána i u vzorku na bázi P188 s nižší koncentrací resveratrolu, a to bez ohledu na použitou metodu přípravy (Obrázek 58). Ve sledovaném čase dochází k poklesu antioxidační aktivity (na cca 83 %). V případě směsi s 20 hm% resveratrolu jsou patrné větší rozdíly mezi oběma metodami, kdy ekvilibrační postup vykazuje o cca 5 až 7 % nižší hodnoty antioxidační účinnosti.



Obrázek 59 Vizualní porovnání antioxidační aktivity vzorků P188/(2 a 20) metodou B v čase

(zdroj: vlastní)

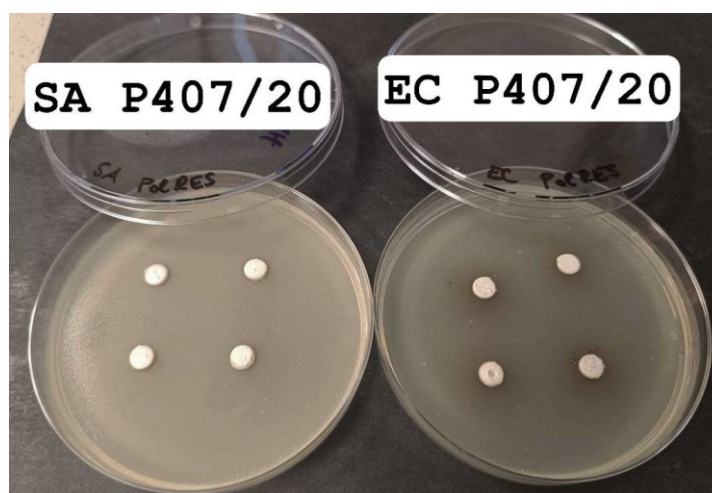
Odpovídající změny barvy vzorků P188 s resveratrolem připravených metodou B po interakci s DPPH lze vidět na obrázku 59. Je patrné, že měřením v čase dochází ke změnám intenzity zbarvení roztoků, kdy nejsvětlejší barva je zaznamenána u vzorků měřených ihned po přípravě. Vzorek 188/20/B, který obsahuje vyšší koncentraci RES zůstává nepatrně vizuálně stabilnější i po měsíci, což je v souladu se získanými experimentálními údaji, které naznačují, že vyšší koncentrace resveratrolu zajišťuje lepší antioxidační aktivitu v systémech na bázi P188.

Výsledky potvrzují, že antioxidační aktivita všech studovaných vzorků v průběhu času klesá, přičemž k největším změnám dochází po 1 měsíci skladování. Získané výsledky byly porovnány s údaji uvedenými v [63], kde byla studována enkapsulace kyseliny galové v micelách poloxameru F68. Autoři prokázali, že antioxidační aktivita zůstává bezprostředně po přípravě vysoká a dosahuje 93–94 %. V jejich studii však nebyl pozorován žádný významný pokles aktivity v průběhu času, což může být způsobeno rozdíly v polymerní matrici nebo podmínkami stabilizace systému.

V porovnání se studií Patela a kolegů [64] lze konstatovat, že použití pluronových micel přispívá ke zlepšení antioxidační aktivity stabilizací polyfenolů. V této studii autoři zkoumali enkapsulaci kvercetinu v poloxameru P123/F88 a zjistili, že aktivita zůstává vyšší než u volného kvercetinu.

8.7 Antibakteriální účinnost

Testování bylo provedeno na vybraném vzorku P407 s vyšší koncentrací resveratrolu 20 hm%. Na obrázku 60 lze vidět výsledky agar difúzní metody proti *Staphylococcus aureus* (SA) a *Escherichia coli* (EC).



Obrázek 60 Výsledky agar difúzní metody vzorku P407/20 proti *S. aureus* (vlevo) a *E. coli* (vpravo)

(zdroj: vlastní)

Po inkubaci nebyly pozorovány žádné inhibiční zóny okolo disků, nelze tedy pomocí této metody antibakteriální vlastnosti potvrdit. Podle studie [65], kde byla využita mikrodiluční metoda, resveratrol vykazoval antimikrobiální účinky proti SA, zejména prokázal schopnost inhibovat tvorbu biofilmů a snižovat bakteriální virulenci snížením exprese faktorů patogenity. Autoři zdůrazňují, že k dosažení maximální účinnosti je zapotřebí vyšších koncentrací látky nebo její kombinace s antibiotiky, což je také v souladu s potřebou zdokonalit lékové formy. Studie Vestergaard a kol. [66] prokázala, že gramnegativní bakterie, jako je například *E.coli*, vykazují vyšší odolnost vůči působení resveratrolu, vzhledem k nízké propustnosti jejich vnější membrány. Nicméně v kombinaci s některými antibiotiky lze očekávat vyšší účinek, což otevírá perspektivy pro vývoj nových strategií v oblasti antimikrobiálních systémů.

ZÁVĚR

Předložená bakalářská se věnuje studiu kopolymerních micel na bázi poloxamerů P407, P188, resp. jejich kombinací pro enkapsulaci bioaktivní sloučeniny resveratrolu. Získané výsledky potvrdily vliv způsobu přípravy a složení vybraných nosičů na fyzikálně-chemické vlastnosti, stabilitu a biologickou aktivitu micel.

Kopolymerní nosiče připravené ekvilibrační metodou vykazovaly menší velikost částic (20–30 nm) s dobrou stabilitou, zatímco metodou hydratace tenkého filmu byly získány částice o velikosti 40–60 nm s tendencí agregovat v čase. Všechny kopolymerní micely vykazovaly záporné hodnoty zeta potenciálu v rozmezí -17 až -33 mV a pH okolo 6,5, což tyto systémy činí perspektivní pro topické aplikace.

Poloxamerní nosiče prokázaly značné hodnoty enkapsulační účinnosti pro resveratrol (98–99 %), která po měsíci skladování klesla na cca 93 %, přičemž nejvýznamnější pokles v čase byl zaznamenán u formulace na bázi P188. V neposlední řadě byla u připravených systémů naměřena výrazná antioxidační aktivita (v průměru 95 % v závislosti na metodě přípravy), která v čase pouze mírně klesala (na hodnoty okolo 82 %). Tento fakt poukazuje na schopnost kopolymerních micel účinně chránit resveratrol před degradací.

Získané výsledky otevírají perspektivy pro další výzkum ve směru optimalizace složení micelárních systémů, zejména jejich kombinace s jinými polymerními nosiči. Následující výzkum by se mohl zaměřit na vliv podmínek skladování a studium kinetiky uvolňování resveratrolu, případně jiných aktivních látek z poloxamerních kopolymerních micel, které by mohly sloužit pro topické, či terapeutické aplikace.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] WYPYCH, George. *Handbook of Antioxidants*. Online. Toronto: ChemTec, 2020. ISBN 978-1-927885-60-4. Dostupné z: <https://app-knovel-com.proxy.k.utb.cz/kn/resources/kpHA00003D/toc?cid=kpHA00003D>. [cit. 2025-04-03].
- [2] CONSTANTINESCU, Teodora a MIHIS, A. G. Resveratrol as a privileged molecule with antioxidant activity. Online. In: *Food Chemistry Advances*. 3. Elsevier, 12.2023n. 1., s. 1-8. ISSN 2772753x. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100539>. [cit. 2024-08-29].
- [3] SIES, Helmut. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* [online]. Cambridge University Press, 1997, 82(2), 291-295 [cit. 2024-08-27]. ISSN 0958-0670. Dostupné z: doi:10.1113/expphysiol.1997.sp004024.
- [4] BARKER, Tyler. Vitamins and Human Health: Systematic Reviews and Original Research. Online. *Nutrients*. 2023, roč. 15, č. 13, s. 1-4. ISSN 2072-6643. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.3390/nu15132888>. [cit. 2024-10-05].
- [5] NHS. *Vitamin A -Vitamins and minerals*. Online. NHS. NHS website for England. 2020, 3.08.2023. Dostupné z: <https://www.nhs.uk/conditions/vitamins-and-minerals/vitamin-a/>. [cit. 2024-10-05].
- [6] NIKITINA, Janna. *БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ В КОСМЕТОЛОГІЇ / BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES IN COSMETOLOGY*. Online. ACADEMY COSMETIC CHEMISTRY BY JANNA NIKITINA. Academy Cosmetic Chemistry by Janna Nikitina. 2023, 2024. Dostupné z: <https://jnacademy.com.ua/blog/291-biological-active-substance-in-cosmetology>. [cit. 2024-10-05].
- [7] PLÁTENÍK PH.D, MUDr. Jan. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. Online. *Interní medicína pro praxi*. 2009, roč. 1, č. 11, article 11, s. 30-33. ISSN 1803-5256. Dostupné z: Solen Medical Education, <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2009/01/06.pdf>. [cit. 2024-10-05].
- [8] NHS. *Vitamin C -Vitamins and minerals*. Online. NHS. NHS website for England. 2020, 3.08.2023. Dostupné z: <https://www.nhs.uk/conditions/vitamins-and-minerals/vitamin-c/>. [cit. 2024-10-05].

- [9] NHS. *Vitamin E -Vitamins and minerals*. Online. NHS. NHS website for England. 2020, 3.08.2023. Dostupné z: <https://www.nhs.uk/conditions/vitamins-and-minerals/vitamin-e/>. [cit. 2024-10-05].
- [10] ЗВЕРЕВ, Я.Ф. а БПЮХАНОВ, В.М. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты. Online. *Бюллетень медицинской науки*. 2017, роç. 1, ç. 5, article 5, s. 20-27. ISSN 2541-8475. Dostupné z: Научная электронная библиотека «КиберЛенинка», <file:///C:/Users/%D0%95%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B0/Downloads/Telegram%20Desktop/flavonoidy-kak-perspektivnye-prirodnye-antioksidanty.pdf>. [cit. 2024-10-05].
- [11] PORTILLO, María P. a FERNANDEZ-QUINTELA, Alfredo. *Benefits of Resveratrol Supplementation*. Online. MDPI, 2019. ISBN 978-3-03921-276-7. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/books978-3-03921-276-7>. [cit. 2024-10-05].
- [12] PECYNA, Paulina; WARGULA, Joanna; MURIAS, Marek a KUCINSKA, Malgorzata. More Than Resveratrol: New Insights into Stilbene-Based Compounds: New Insights into Stilbene-Based Compounds. Online. *Biomolecules*. 2020, роç. 10, ç. 8, s. 1-40. ISSN 2218-273X. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.3390/biom10081111>. [cit. 2024-09-29]
- [13] BIOOO.CZ S.R.O. *Butylhydroxytoluen (BHT)*. Online. BIOOO.CZ S.R.O. BIOOO Encyklopedie. 2007, 2024. Dostupné z: <https://encyklopedie.biooo.cz/vyhledat-slozeni/butylhydroxytoluen-bht/>. [cit. 2024-10-05].
- [14] *OPINION on Butylated Hydroxytoluene (BHT)*. Online. In: SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER SAFETY SCCS PUBLIC HEALTH. Oficiální internetová stránka Evropské unie. 2021, 20.09.2024. Dostupné z: https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/sccs_o_257.pdf. [cit. 2024-10-05].
- [15] NABAVI, Seyed, SANCHES SILVA, Ana (ed.). *Antioxidants effects in health: the bright and the dark side*. Amsterdam: Elsevier, [2022]. ISBN 978-0-12-819096-8.
- [16] JAVAHERI-GHEZELDIZAJ, Fatemeh, Alizadeh ADEL MIRZA, Dehghan PARVIN a Ezzati Nazhad Dolatabadi JAFAR. Pharmacokinetic and toxicological overview of propyl gallate food additive. Food Chemistry [online]. Elsevier, 2023, (Volume 423), 1-11 [cit. 2024-08-27]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.135219

- [17] LANGCAKE, P. a PRYCE, R.J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. Online. *Physiological Plant Pathology*. 1976, roč. 9, č. 1, s. 77-86. ISSN 00484059. Dostupné z: ScienceDirect, [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(76\)90077-1](https://doi.org/10.1016/0048-4059(76)90077-1). [cit. 2024-10-06].
- [18] BURNS, Jennifer; YOKOTA, Takao; ASHIHARA, Hiroshi; LEAN, Michael E. J. a CROZIER, Alan. Plant Foods and Herbal Sources of Resveratrol. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, č. Volume 50, s. 3337-3339. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf0112973>. [cit. 2024-08-29].
- [19] XU, Yichi; FANG, Mengxue; LI, Xue; WANG, Du; YU, Li et al. Contributions of Common Foods to Resveratrol Intake in the Chinese Diet. Online. *Foods*. 2024, roč. 13, č. 8, s. 1-10. ISSN 2304-8158. Dostupné z: MDPI, <https://doi.org/10.3390/foods13081267>. [cit. 2024-10-06]. PERVAIZ, Shazib. Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. Online. *Journal Metrics: The FASEB Journal*. 2003, č. Volume 38, s. 1975-1985. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://doi.org/10.1096/fj.03-0168rev>. [cit. 2024-08-29].
- [20] WENZEL, Elisabeth a SOMOZA, Veronika. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. Online. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2005, č. Volume 49, s. 472 - 481. ISSN 1613-4125. Dostupné z: Wiley Online Library, <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500010>. [cit. 2024-08-29].
- [21] GERSZON, Joanna ,; PUCHAŁA, Mieczysław a RODACKA, Aleksandra. ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RESVERATROL AND ITS PROTECTIVE EFFECTS IN NEURODEGENERATIVE DISEASES. Online. *Advances in Cell Biology*. 2014, č. Volume 4, s. 97-112. Dostupné z: SpringerLink, <https://doi.org/10.2478/acb-2014-0006>. [cit. 2024-08-30].
- [22] NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. PubChem COMPOUND SUMMARY Resveratrol. Online. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. PubChem. 2005, 2024-08-24. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Resveratrol>. [cit. 2024-08-29].
- [23] SCHWEKENDIEK, AXEL; SPRING, OTMAR; HEYERICK, ARNE; PICKEL, BENJAMIN; PITSCH, NICOLA T. et al. Constitutive Expression of a Grapevine Stilbene Synthase Gene in Transgenic Hop (*Humulus lupulus* L.) Yields Resveratrol and Its Derivatives in Substantial Quantities. Online. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry. 2007, č. Volume 55, article 55, s. 7002-7008. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf070509e>. [cit. 2024-08-29].
- [24] KOVALEV, I.E. a RUMYANTSEVA, E.I. The cytochrome r-450 system and diabetes. Online. Problems of Endocrinology. 2000, č. Tom 46 (2), s. 16-21. ISSN 2308-1430. Dostupné z: Since 1936 the “Problems of Endocrinology, <https://doi.org/10.14341/probl11839>. [cit. 2024-08-29].
- [25] CHEN, Jennifer; ZHOU, Yungui; MUELLER-STEINER, Sarah; CHEN, Lin-Feng; GAN, Li et al. SIRT1 Protects against Microglia-dependent Amyloid- Toxicity through Inhibiting NF-B Signaling. Online. The journal of biological chemistry. 2005, č. Volume 280, article 48, s. 40364 –40374. Dostupné z: National Library of Medicine, <https://doi.org/10.1074/jbc.M509329200>. [cit. 2024-08-30].
- [26] CHEKALINA, N. I. Resveratrol more significantly than quercetin improves central hemodynamics in patients with ischemic heart disease. Online. Bulletin of problems in biology and medicine. 2023, č. 3, article 170, s. 304-309. ISSN 2077-4214. Dostupné z: Poltava State Medical University, <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2023-3-170-304-309>. [cit. 2024-08-30].
- [27] CHAN, Vincent; FENNING, Andrew; IYER, Abishek; BROWN, Lindsay a HOEY, Andrew. Resveratrol improves cardiovascular function in DOCA-salt hypertensive rats. Online. Current Pharmaceutical Biotechnology. 2011, č. Volume 12, s. 429 - 436. ISSN 1873-4316. Dostupné z: National Library of Medicine, <https://doi.org/10.2174/138920111794480552>. [cit. 2024-08-30].
- [28] JANG, Jung Yoon; IM, Eunok a KIM, Nam Deuk. Mechanism of Resveratrol-Induced Programmed Cell Death and New Drug Discovery against Cancer:A Review. Online. International Journal of Molecular Sciences. 2022, s. 1-28. Dostupné z: International Journal of Molecular Sciences, <https://doi.org/10.3390/ijms232213689>. [cit. 2024-08-30].
- [29] CHOPP, Michael; GAUTAM, Subhash C. et al. Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. Online. In: NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. 2009. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2833270/pdf/nihms175458.pdf>. [cit. 2024-08-30].

- [30] REN, Boxu; KWAH, Marabeth Xin-Yi; LIU, Cuiliu; MA, Zhaowu; SHANMUGAM, Muthu K. et al. Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. Online. Cancer Letters. 2021, roč. 515, s. 63-72. ISSN 03043835. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.05.001>. [cit. 2024-08-30].
- [31] KONDRATIUK, V.K.; KONDRATIUK, K.O.; GASPARYAN, K.A.; GORBAN, N.Ye.; TROKHYMOVYCH, O.V. et al. Modern opportunities and prospects for preserving woman's health. Online. Reproductive health of woman. 2022, č. 5, s. 19-25. ISSN 2708-8731. Dostupné z: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.5.2022.265470>. [cit. 2024-09-05].
- [32] MASCARENHAS-MELO, Filipa; ARAÚJO, André; RODRIGUES, Márcio; MATHUR, Ankita; GONÇALVES, Maria et al. Dermatological Bioactivities of Resveratrol and Nanotechnology Strategies to Boost Its Efficacy—An Updated Review. Online. Cosmetics. 2023, roč. 10, č. 3, s. 1-28. ISSN 2079-9284. Dostupné z: MDPI, <https://doi.org/10.3390/cosmetics10030068>. [cit. 2024-09-05].
- [33] LIU, Yong; CHAN, Fangxiao; SUN, Haimei; YAN, Jihong; FAN, Dongying et al. Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression. Online. European Journal of Pharmacology. 2011, roč. 650, č. 1, s. 130-137. ISSN 00142999. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.10.009>. [cit. 2024-09-05].
- [34] LEE, Taek Hwan; SEO, Jae Ok; BAEK, So-Hyeon a KIM, Sun Yeou. Inhibitory Effects of Resveratrol on Melanin Synthesis in Ultraviolet B-Induced Pigmentation in Guinea Pig Skin. Online. Biomol Ther (Seoul). 2014, roč. 22, č. 1, s. 35-40. ISSN 2005-4483. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed Central, <https://doi.org/10.4062/biomolther.2013.081>. [cit. 2024-09-05].
- [35] SINGLETON, Richard H.; YAN, Hong Q.; FELLOWS-MAYLE, Wendy a DIXON, C. Edward. Resveratrol Attenuates Behavioral Impairments and Reduces Cortical and Hippocampal Loss in a Rat Controlled Cortical Impact Model of Traumatic Brain Injury. Online. Journal of Neurotrauma. 2010, roč. 27, č. 6, s. 1091-1099. ISSN 0897-7151. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed Central, <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1291>. [cit. 2024-09-05].

- [36] DAS, Somak; MITROVSKY, Goran; VASANTHI, Hannah R. a DAS, Dipak K. Antiaging Properties of a Grape-Derived Antioxidant Are Regulated by Mitochondrial Balance of Fusion and Fission Leading to Mitophagy Triggered by a Signaling Network of Sirt1-Sirt3-Foxo3-PINK1-PARKIN: Antiaging Properties of a Grape-Derived Antioxidant Are Regulated by Mitochondrial Balance of Fusion and Fission Leading to Mitophagy Triggered by a Signaling Network of Sirt1-Sirt3-Foxo3-PINK1-PARKIN. Online. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014, roč. 2014, s. 1-13. ISSN 1942-0900. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.1155/2014/345105>. [cit. 2024-09-05].
- [37] JESUS, Ana; SEBASTIÃO, Ana I.; BRITES, Gonçalo; CORREIA-DA-SILVA, Marta; CIDADE, Honorina et al. A Hydrophilic Sulfated Resveratrol Derivative for Topical Application: Sensitization and Anti-Allergic Potential. Online. *Molecules*. 2023, roč. 28, č. 7. ISSN 1420-3049. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed Central, <https://doi.org/10.3390/molecules28073158>. [cit. 2024-09-05].
- [38] RATZ-ŁYKO, Anna a ARCT, Jacek. Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review. Online. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 2018, roč. 21, č. 2, s. 84-90. ISSN 1476-4172. Dostupné z: Research Gate, <https://doi.org/10.1080/14764172.2018.1469767>. [cit. 2024-09-05].
- [39] Copolymer Concepts Mixing Things Up. Online. Welcome to the Polymer Science Learning Center. 2003, 2024. Dostupné z: <https://pslc.ws/macrog/copoly.htm>. [cit. 2024-10-12].
- [40] ALMEIDA, Tamires Cunha; SEIBERT, Janaina Brandão; ALMEIDA, Sávio Henrique de Souza; AMPARO, Tatiane Roquete; TEIXEIRA, Luiz Fernando de Medeiros et al. Polymeric micelles containing resveratrol: development, characterization, cytotoxicity on tumor cells and antimicrobial activity: development, characterization, cytotoxicity on tumor cells and antimicrobial activity. Online. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020, roč. 56, s. 1-13. ISSN 2175-9790. Dostupné z: SciELO - Scientific Electronic Library Online, <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000418401>. [cit. 2024-09-05].
- [41] ZARRINTAJ, Payam; RAMSEY, Joshua D.; SAMADI, Ali; ATOUFI, Zhaleh; YAZDI, Mohsen Khodadadi et al. Poloxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications.

- Online. *Acta Biomaterialia*. 2020, roč. 110, s. 37-67. ISSN 17427061. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.028>. [cit. 2024-09-05].
- [42] KANCHARLA, Samhitha; ZOYHOFSKI, Nathan A.; BUFALINI, Lucas; CHATELAIS, Boris F. a ALEXANDRIDIS, Paschalis. Association between Nonionic Amphiphilic Polymer and Ionic Surfactant in Aqueous Solutions: Effect of Polymer Hydrophobicity and Micellization. Online. *Polymers*. 2020, roč. 12, č. 8, s. 1-23. ISSN 2073-4360. Dostupné z: MDPI, <https://doi.org/10.3390/polym12081831>. [cit. 2024-09-05].
- [43] A. RAO, Deepa; COTE, Brianna; STAMMET, Michelle; M. AL FATEASE, Adel a W.G. ALANI, Adam. Evaluation of the Stability of Resveratrol Pluronic ® Micelles Prepared by Solvent Casting and Simple Equilibrium Methods. Online. *Pharmaceutical Nanotechnology*. 2016, roč. 4, č. 2, s. 120-125. ISSN 22117385. Dostupné z: ResearchGate, <https://doi.org/10.2174/2211738504666160428155355>. [cit. 2024-09-05].
- [44] GEORGE, Herman F. a QURESHI, Farrukh. Newton's Law of Viscosity, Newtonian and Non-Newtonian Fluids. Online. *Encyclopedia of Tribology*. 2013, s. 2416-2420. ISBN 978-0-387-92896-8. Dostupné z: SpringerLink, https://doi.org/10.1007/978-0-387-92897-5_143. [cit. 2024-09-06].
- [45] GAUCHER, Geneviève; DUFRESNE, Marie-Hélène; SANT, Vinayak P.; KANG, Ning; MAYSINGER, Dusica et al. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. Online. *Journal of Controlled Release*. 2005, roč. 109, č. 1-3, s. 169-188. ISSN 01683659. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.09.034>. [cit. 2024-09-09].
- [46] GREGORIOU, Yiota; GREGORIOU, Gregoria; YILMAZ, Vural; KAPNISIS, Konstantinos; PROKOPI, Marianna et al. Resveratrol loaded polymeric micelles for theranostic targeting of breast cancer cells. Online. *Nanotheranostics*. 2021, roč. 5, č. 1, s. 113-124. ISSN 2206-7418. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.7150/ntno.51955>. [cit. 2024-09-06].
- [47] ASSIRI, Ahmad A.; GLOVER, Katie; MISHRA, Deepakkumar; WAITE, David; VORA, Lalitkumar K. et al. Block copolymer micelles as ocular drug delivery systems. Online. *Drug Discovery Today*. 2024, roč. 29, č. 8, s. 1-21. ISSN 13596446. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2024.104098>. [cit. 2024-10-15].

- [48] DAVIDOV-PARDO, Gabriel a MCCLEMENTS, David Julian. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. Online. Trends in Food Science & Technology. 2014, roč. 38, č. 2, s. 88-103. ISSN 09242244. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.003>. [cit. 2024-09-06].
- [49] CHEN, Ying; ZHANG, Huiyong; YANG, Jing a SUN, Haiyan. Improved Antioxidant Capacity of Optimization of a Self-Microemulsifying Drug Delivery System for Resveratrol. Online. Molecules. 2015, roč. 20, č. 12, s. 21167-21177. ISSN 1420-3049. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.3390/molecules201219750>. [cit. 2024-09-06].
- [50] ZHANG, Lan; TAN, LiWei; CHEN, LiJuan; CHEN, XiaoXin; LONG, ChaoFeng et al. A simple method to improve the stability of docetaxel micelles. Online. Scientific Reports. 2016, roč. 6, č. 1, s. 1-10. ISSN 2045-2322. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.1038/srep36957>. [cit. 2024-09-09].
- [51] P. PORTILLO, Maria a FERNANDEZ-QUINTELA, Alfredo. Benefits of Resveratrol Supplementation. Online. MDPI, 2019. ISBN 978-3-03921-276-7. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/books978-3-03921-276-7>. [cit. 2024-09-09].
- [52] RAGU, Pauline; RUPARELIA, Ketan; VENERO, Diego Alba a MANSOUR, Omar T. The characterization of Pluronic P123 micelles in the presence of sunscreen agents. Online. International Journal of Cosmetic Science. 2023, roč. 45, č. 4, s. 470-479. ISSN 0142-5463. Dostupné z: Esilver Science Direct, <https://doi.org/10.1111/ics.12856>. [cit. 2024-09-11].
- [53] QUEK, Jing Yang; BRIGHT, Richard; DABARE, PRL a VASILEV, Krasimir. ROS-responsive copolymer micelles for inflammation triggered delivery of ibuprofen. Online. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2022, roč. 217, s. 1-11. ISSN 09277765. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112590>. [cit. 2024-09-11].
- [54] KASZA, Karolina; SOUKARIEH, Fadi; ROMERO, Manuel; HARDIE, Kim R.; GURNANI, Pratik et al. Triblock copolymer micelles enhance solubility, permeability and activity of a quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms.

- Online. RSC Applied Polymers. 2024, roč. 2, č. 3, s. 444-455. ISSN 2755-371X. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1039/D3LP00208J>. [cit. 2024-09-11].
- [55] XI, Shun; WANG, Le; LIU, Jinlu a CHAPMAN, Walter. Thermodynamics, Microstructures, and Solubilization of Block Copolymer Micelles by Density Functional Theory. Online. Langmuir. 2019, roč. 35, č. 14, s. 5081-5092. ISSN 0743-7463. Dostupné z: E, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b04336>. [cit. 2024-09-11].
- [56] HALADJOVA, Emi a RANGELOV, Stanislav. Application of Polymeric Micelles for Drug and Gene Delivery. Online. Pharmaceutics. 2024, roč. 16, č. 5, s. 1-3. ISSN 1999-4923. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16050646>. [cit. 2024-09-11].
- [57] DE AZEVEDO STAVALE, Amanda; OLIVA FONSECA, Gabriela; SEVERO DUARTE, Paola; COSTA MACEDO, Lukas a PERCEBOM, Ana Maria. Nanoparticles of surfactant and block copolymers with high uptake of oily ingredients for cosmetic formulations. Online. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2019, roč. 581, s. 1-10. ISSN 09277757. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123779>. [cit. 2024-09-11].
- [58] NEGUT, Irina a BITA, Bogdan. Polymeric Micellar Systems—A Special Emphasis on “Smart” Drug Delivery. Online. Pharmaceutics. 2023, roč. 15, č. 3, s. 1-49. ISSN 1999-4923. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed Central, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030976>. [cit. 2024-10-13].
- [59] ZHANG, Wei; LIU, Chun-ping; CHEN, Shi-qi; LIU, Meng-jiao; ZHANG, Li et al. Poloxamer modified florfenicol instant microparticles for improved oral bioavailability. Online. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2020, roč. 193, s. 1-8. ISSN 09277765. Dostupné z: Elsevier Science Direct, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111078>. [cit. 2024-09-06].
- [60] ALI, Muhammad; BENFANTE, Viviana; DI RAIMONDO, Domenico; SALVAGGIO, Giuseppe; TUTTOLOMONDO, Antonino et al. Recent Developments in Nanoparticle Formulations for Resveratrol Encapsulation as an Anticancer Agent. Online. *Pharmaceutics*. 2024, roč. 17, č. 1, s. 1-38. ISSN 1424-8247. Dostupné z: National Library of Medicine: PubMed, <https://doi.org/10.3390/ph17010126>. [cit. 2024-10-15].

- [61] LAZAROVA, Maria; STEFANOVA, Miroslava; TSVETANOVA, Elina; GEORGIEVA, Almira; TASHEVA, Krasimira et al. Resveratrol-Loaded Pluronic Micelles Ameliorate Scopolamine-Induced Cognitive Dysfunction Targeting Acetylcholinesterase Activity and Programmed Cell Death. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024, roč. 25, č. 23, s. 1-19. ISSN 1422-0067. Dostupné z: MDPI, <https://doi.org/10.3390/ijms252312777>. [cit. 2025-03-19].
- [62] CAI, Yuee; SUN, Zhongqing; FANG, Xiaobin; FANG, Xiefan; XIAO, Fei et al. Synthesis, characterization and anti-cancer activity of Pluronic F68–curcumin conjugate micelles. Online. *Drug Delivery*. 2016, roč. 23, č. 7, s. 2587-2595. ISSN 1071-7544. Dostupné z: Taylor & Francis, <https://doi.org/10.3109/10717544.2015.1037970>. [cit. 2025-03-19].
- [63] GURURAJ, Deepika a VEERICHETTY, Veerabhuvaneshwari. Comparative study on in vitro release kinetics of Gallic acid β Cyclodextrin complex and Gallic acid Pluronic loaded films. Online. *Materials Today: Proceedings*. 2022, vol. 59, no. 1, s. 1155-1162. ISSN 22147853. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.03.183>. [cit. 2025-03-19].
- [64] PATEL, Hemil S.; SHAIKH, Sofiya J.; RAY, Debes; ASWAL, Vinod K.; VAIDYA, Foram et al. Formulation, Solubilization, and In Vitro Characterization of Quercetin-Incorporated Mixed Micelles of PEO-PPO-PEO Block Copolymers. Online. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022, vol. 194, no. 1, s. 445-463. ISSN 0273-2289. Dostupné z: Springer Nature, <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03691-w>. [cit. 2025-03-19].
- [65] CUI, Wenjing; WANG, Yadong; ZHANG, Li; LIU, Fang; DUAN, Guangcai et al. Recent advances in the use of resveratrol against Staphylococcus aureus infections (Review). Online. *Medicine International*. 2024, vol. 4, no. 6, s. 1-9. ISSN 2754-3242. Dostupné z: MDPI, <https://doi.org/10.3892/mi.2024.191>. [cit. 2025-03-19].
- [66] VESTERGAARD, Martin a INGMER, Hanne. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. Online. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2019, vol. 53, no. 6, s. 716-723. ISSN 09248579. Dostupné z: ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.02.015>. [cit. 2025-03-19].
- [67] AINUROFIQ, Ahmad; HIDAYAT, Yuniawan; LESTARI, Eva Y. P.; KUMALASARI, Mayasri M. W. a CHOIRI, Syaiful. Resveratrol Nanocrystal

Incorporated into Mesoporous Material: Rational Design and Screening through Quality-by-Design Approach. Online. *Nanomaterials*. 2022, vol. 12, no. 2, s. 1-15. ISSN 2079-4991. Dostupné z: Research Gate, <https://doi.org/10.3390/nano12020214>. [cit. 2025-04-09].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1	Strukturní vzorec vitamínu A	14
Obrázek 2	Strukturní vzorec vitamínu E.....	14
Obrázek 3	Strukturní vzorec vitamínu C	15
Obrázek 4	Strukturní vzorce některých typů flavonoidů	16
Obrázek 5	Strukturní vzorce některých typů stilbenů.....	17
Obrázek 6	Strukturní vzorec butylhydroxytoluenu.....	18
Obrázek 7	Strukturní vzorec butylhydroxyanisolu	19
Obrázek 8	Strukturní vzorec propylgalátu	19
Obrázek 9	Strukturní vzorec cis– a trans-resveratrolu.....	21
Obrázek 10	Schematické znázornění srdce a koronárních cév při ischemické chorobě srdeční	24
Obrázek 11	Schematické znázornění syndromu polycystických vaječníků	25
Obrázek 12	Strukturní vzorec PLA.....	28
Obrázek 13	Strukturní vzorec PCL.....	28
Obrázek 14	Strukturní vzorec poly(asparagové) kyseliny	29
Obrázek 15	Strukturní vzorec poly(glutamové) kyseliny	30
Obrázek 16	Strukturní vzorec poly(lysinu).....	30
Obrázek 17	Strukturní vzorec poloxameru	31
Obrázek 18	Strukturní vzorec Pluronic F127	33
Obrázek 19	Strukturní vzorec Pluronic F68	35
Obrázek 20	Strukturní vzorec Pluronic P123	36
Obrázek 21	Schematické znázornění tvorby kopolymerních micel s léčivem	37
Obrázek 22	Strukturní vzorec ibuprofenu.....	38
Obrázek 23	Strukturní vzorce avobenzonu, oktinoxátu a ethylhexyltriazonu	39
Obrázek 24	Vliv různých forem resveratrolu na životaschopnost buněk T24: srovnání volného a enkapsulovaného resveratrolu MS-10+RES-3	41
Obrázek 25	Automatický tenziometr KRÜSS K20 EasyDyne	48
Obrázek 26	Wilhelmyho platinová destička na tenziometru	48
Obrázek 27	Vakuové odpařování ethanolu při přípravě roztoků	50
Obrázek 28	Vzorky P188 s různými koncentracemi RES (nahore 2 mg.ml ⁻¹), dole 20 mg.ml ⁻¹) před a po rehydrataci	51
Obrázek 29	Zetasizer Nano ZS Malvern.....	52
Obrázek 30	Kyveta plastová spektroskopická pro UV oblast, BRAND.....	52
Obrázek 31	Kyveta pro měření zeta potenciálu DTS1070	53
Obrázek 32	Spektrofotometr photoLab 6600 UV-VIS	53

Obrázek 33 Kalibrační přímka pro RES při vlnové délce 375 nm	54
Obrázek 34 Postup přípravy vzorků pro měření enkapsulační účinnosti	55
Obrázek 35 Princip měření antioxidační aktivity pomocí DPPH	56
Obrázek 36 Bariérový pH metr CPH 51 s kombinovanou pH elektrodou HC 103	57
Obrázek 37 Vizuální porovnání vzorků P407/2/A a P407/20/A	60
Obrázek 38 Vizuální porovnání vzorků P407/2/B a P407/20/B	60
Obrázek 39 Vizuální porovnání vzorků P407/P188/2/A P407/P188/20/A	61
Obrázek 40 Vizuální porovnání vzorků P407/P188/2/B a P407/P188/20/B	61
Obrázek 41 Vizuální porovnání vzorků P188/2/A a P188/20/A	62
Obrázek 42 Stabilita vzorků P188/2/B a P188/20/B	62
Obrázek 43 Velikost částic a polydisperzita zásobních roztoků poloxamerů	63
Obrázek 44 Velikost částic a polydisperzita vzorků P407/2 a P407/20	64
Obrázek 45 Velikost částic a polydisperzita vzorků P407/P188/2 a P407/P188/20	65
Obrázek 46 Velikost částic a polydisperzita vzorků P188/2 a P188/20	65
Obrázek 47 Distribuční křivky velikosti částic vzorku P407/2/A	66
Obrázek 48 Distribuční křivky velikosti částic vzorku P407/P188/20/B	66
Obrázek 49 Zeta potenciál zásobních roztoků poloxamerů	67
Obrázek 50 Zeta potenciál systémů P407/2 a P407/20	68
Obrázek 51 Zeta potenciál systémů P407/P188/2 a P407/P188/20	68
Obrázek 52 Zeta potenciál systémů P188/2 a P188/20	69
Obrázek 53 Enkapsulační účinnost systémů P407/2 a P407/20	70
Obrázek 54 Enkapsulační účinnost systémů P407/P188/2 a P407/P188/20	70
Obrázek 55 Enkapsulační účinnost systémů P188/2 a P188/20	71
Obrázek 56 Úbytek absorbance pro vzorky P407/2 a P407/20	72
Obrázek 57 Úbytek absorbance pro vzorky P407/P188/2 a P407/P188/20	72
Obrázek 58 Úbytek absorbance pro vzorky P188/2 a P188/20	73
Obrázek 59 Vizuální porovnání antioxidační aktivity vzorků P188/(2 a 20) metodou B v čase	74
Obrázek 60 Výsledky agar difúzní metody vzorku P407/20 proti <i>S. aureus</i> (vlevo) a <i>E. coli</i> (vpravo)	75

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Navážky pro přípravu roztoků poloxamerů	47
Tabulka 2 Vypočítané množství RES	49
Tabulka 3 Vypočítané množství poloxameru a RES	50
Tabulka 4 Povrchové napětí zásobních roztoků	59

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABTS - 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)

ADT - Agarová difúzní metoda

ATP - Adenosintrifosfát

BHA - Butylhydroxyanisol

BHT - Butylhydroxytoluen

CMC - Kritická micelární koncentrace

CMT - Kritická micelární teplota

COX-2 - Cyklooxygenázy-2

DNA - Deoxyribonukleová kyselina

DPPH - 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

EC - *Escherichia coli*

FRAP - Antioxidační schopnost redukce železa

IC₅₀ - Inhibiční koncentrace 50

IL-6 - Interleukin-6

MCF-7 - Buněčné linie lidského karcinomu prsu závislé na hormonech

MDA-MB-231 - Hormonálně nezávislá buněčná linie lidského karcinomu prsu

McF - McFarland ($0-180 \cdot 10^7$ buněk $\cdot$ ml⁻¹)

Mha - Mueller–Hintonův agar

MS-10+RES-3 - Mikrosomální systém s resveratrolem

NAD⁺ - Oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid

NF-κB - Nukleární faktor kappa B

PCL - poly(ε-kaprolakton)

Pdi - Polydisperzní index

PEO - Poly(ethylenoxidu)

PGA - poly(kyselina glykolová)

PG - Propylgalát

PLA - poly(kyselina mléčná)

PPO - Poly(propylenoxidu)

RES - Resveratrol

RES-GS - Sulfatovaný glykosylovaný derivát resveratrolu

ROS - Reaktivní formy kyslíku

SA - *Staphylococcus aureus*

siRNA - Malá interferující ribonukleová kyselina

SIRT1 - NAD-dependentní deacetyláza sirtuin-1

SIRT3 - NAD-dependentní deacetyláza sirtuin-3

T24 - Lidský uroteliální karcinom

TNF- α - Tumor nekrotizující faktor alfa

UV - Ultrafialové záření